

## **LEISHMANIOSIS CANINA DESDE EL PUNTO DE VISTA CLINICO.**

**Dr. Luís Jesús Bernal Gambin. Departamento de Medicina y Cirugía Animal.  
Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.**

La leishmaniosis canina, supone en las zonas endémicas una de las enfermedades más importantes contra la que tenemos que luchar constantemente los clínicos veterinarios, debido a que cualquier perro puede ser susceptible de ser contagiado a través de la picadura de mosquitos infectados.

Como resultado de las investigaciones de los últimos años, tenemos conocimientos más exactos de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, de métodos de diagnóstico rápidos y cada vez más precisos y fiables, de protocolos de tratamiento estandarizados y de métodos de monitorización de los animales enfermos, que nos permiten tomar las decisiones más adecuadas para mejorar la evolución y el pronóstico de los animales afectados.

### **EPIDEMIOLOGICA**

La OMS reconoce 88 países endémicos con un número de personas afectadas que oscila entre los 12-14 millones. Las zonas geográficas más importantes comprenden Brasil, China y el Área Mediterránea, siendo en esta última España, Italia, Grecia, Portugal y Francia los países más afectados.

La infección en el área mediterránea está ocasionada por *Leishmania infantum* y el reservorio principal del ciclo considerado como doméstico es el perro. Además se ha descrito un ciclo selvático cuyo reservorio principal es el zorro (Prevalencia del 40-75% mediante PCR en España y sur de Italia), lo que supone una conexión entre ciclos al presentar este animal un hábitat cercano a núcleos de población humana.

La seroprevalencia en España aportada en distintos estudios, utilizando técnicas de IFI o ELISA, es muy variable y comprende tasas entre 2,5 al 40% según las zonas, incluso variaciones importantes dentro de una misma Provincia. En Murcia se estima entre un 9-25% dependiendo de los grupos de animales estudiados.

En las zonas consideradas como endémicas, podemos observar hasta un 50% de perros infectados mediante la realización de muestreos utilizando técnicas de PCR, aunque del total de perros el porcentaje de enfermos no supera el 5%. Este hallazgo demuestra que la infección no siempre implica enfermedad. La aparición de la Leishmaniosis va a depender principalmente de la respuesta inmune que presenta el animal infectado y de la virulencia del protozoo.

En la epidemiología, el vector artrópodo *Phlebotomus* spp junto con *Leishmania infantum*, realizan un papel fundamental, aunque se han aportado otras vías de transmisión consideradas como verticales al no intervenir el vector. Concretamente se han descrito infecciones vía transplacentaria, venéreas a través de semen de machos infectados y por transfusiones sanguíneas procedentes de animales infectados portadores del parásito.

Debido al desarrollo de la enfermedad en Países Europeos que carecen del vector (flebotomos), se están barajando la hipótesis de transmisión a través de pulgas y garrapatas, aunque de momento son meras especulaciones. También se contempla la posibilidad de transmisión de la enfermedad a través de mordeduras entre animales infectados y sanos.

Otros factores a tener en cuenta en la diseminación de la enfermedad es la exportación de las zonas endémicas a través de la infección directa de perros que acuden por turismo o mediante el envío de animales dentro de programas de adopción a países donde la enfermedad no es conocida y los veterinarios deben de enfrentarse a animales que desarrollan la Leishmaniosis en ausencia de vectores.

Desde el punto de vista epidemiológico, para completar el ciclo biológico necesitamos de un hospedador vertebrado (perro) y un invertebrado (flebotomo).

El flebotomo (*Flebotomo perniciosus*), es un mosquito de pequeño tamaño, de 2 a 3 mm, color amarillento, alas lanceoladas, patas largas y cuerpo recubierto de cerdas. Presenta una probóscide muy desarrollada como aparato chupador-picador. Los machos se alimentan exclusivamente de material vegetal (fitófagos) y las hembras de sangre (hematófagas).

Para desarrollarse el mosquito necesita de un biotopo que cumpla con una serie de características:

- Temperatura moderada y estable entre 15-28 °C
- Escasa iluminación por su actividad crepuscular.
- Elevado contenido de materia orgánica
- Humedad relativa alta

Normalmente lo vamos a encontrar en madrigueras, grietas de muros, zanjas, sótanos, alcantarillas, huecos de árboles viejos, casas en ruinas, vertederos, escombreras, leñeras, etc.

El mosquito vive aproximadamente un mes y tiene una capacidad para desplazarse entre 200 metros y 2,5 km, presenta fototropismo positivo de manera que es atraído por la luz y puede penetrar en las casas sin dificultad.

Con la proliferación de urbanizaciones próximas a las ciudades y la tendencia a tener una segunda vivienda en el campo con perros en las zonas ajardinadas, hemos creado un hábitat ideal para el desarrollo del mosquito y la diseminación de la enfermedad.

Las hembras, por su carácter hematófago, son las que pican al perro desde los meses de Abril a Noviembre, aunque en algunas regiones como la Comunidad Murciana tenemos mosquitos durante casi todo el año. Existen picos de mayor densidad en los meses de Julio y Septiembre. La máxima actividad es al atardecer y primeras horas de la noche cuando la temperatura se encuentra entre los 15 y 28 °C, en ausencia de lluvia y viento.

El mosquito al picar succiona con la sangre amastigotes procedentes del hospedador vertebrado afectado y en su tubo digestivo pasan a promastigotes donde se multiplican por bipartición completando el ciclo entre 4 y 20 días. Al final del ciclo los promastigotes se depositan en la probóscide para ser inoculados a otros hospedadores vertebrados en sucesivas picaduras. Un animal puede recibir hasta 700 picaduras en un solo día.

## **INMUNOPATOLOGIA**

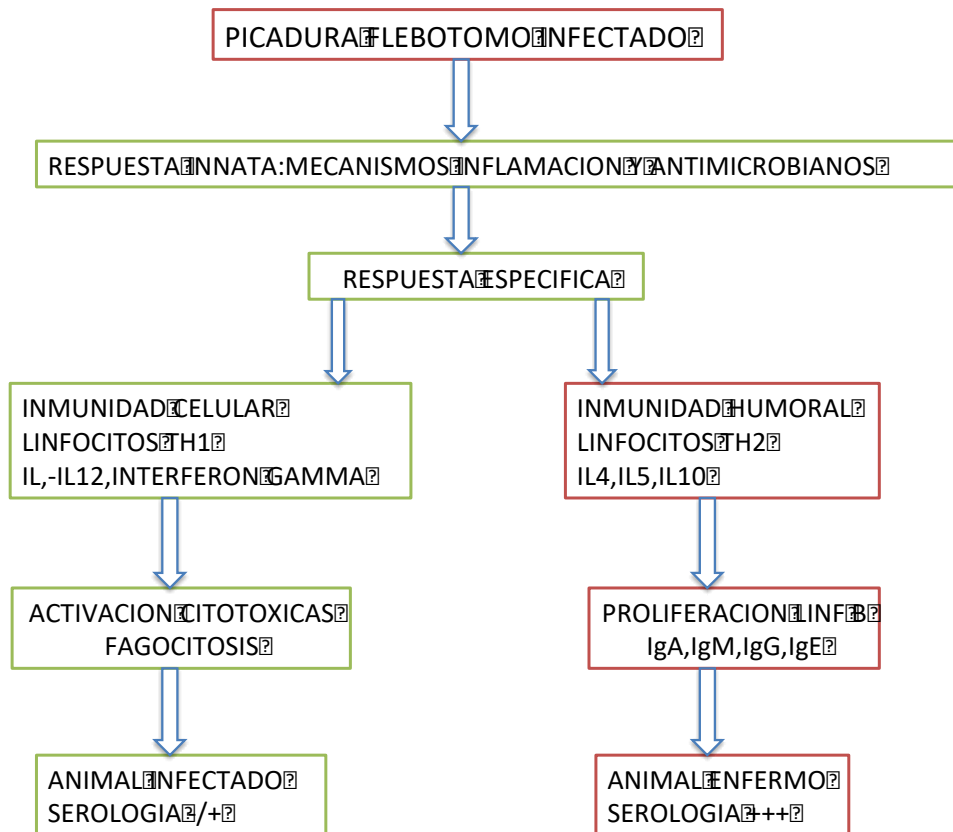
Cuando un perro es picado por un flebótomo infectado que inyecta los promastigotes vía cutánea en la dermis se originan dos tipos de respuestas inmunitarias. Una primera respuesta inespecífica de tipo innato y otra más específica que intenta eliminar de forma selectiva al agente invasor.

La respuesta inespecífica de tipo innato actúa como primera línea defensiva activando funciones inflamatorias y antimicrobianas para contener al patógeno. A su vez, esta respuesta induce la aparición de la respuesta específica mediada por linfocitos T Helper CD4+, capaz de eliminar de forma selectiva al parásito y establecer una memoria inmunológica. Esta última respuesta es la que nos va a diferenciar entre perros resistentes y sensibles a la enfermedad, dependiendo si el animal desarrolla una inmunidad de tipo celular o una inmunidad de tipo humoral respectivamente.

Un animal resistente a la enfermedad es aquel que desarrolla principalmente una inmunidad celular, por estimulación de los linfocitos Th1 que liberan citoquinas como IL2, IL12 y gamma interferón que facilitan la fagocitosis y destrucción del parásito por la actividad específica de células citotóxicas que destruyen con óxido nítrico las células infectadas por amastigotes.

Un animal sensible es aquel que desarrolla principalmente inmunidad humoral mediada por linfocitos Th2 que producen citoquinas como IL4, IL10 y IL5 que estimulan la proliferación de linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas IgG, IgA, IgE e IgM. Las inmunoglobulinas de tipo IgG son las más importantes y el resto actúan como autoanticuerpos contribuyendo al carácter inmunitario de la enfermedad.

Por lo tanto el estado inmunológico es el que va a determinar el desarrollo clínico de la enfermedad.



Cuadro 1: Representación gráfica de la respuesta inmunitaria.

Son diferentes los mecanismos patogénicos responsables de los distintos signos clínicos que podemos observar en los animales enfermos:

- Inflamaciones granulomatosas en piel y órganos internos
- Producción y liberación de citoquinas
- Producción y depósito de inmunocomplejos en distintas localizaciones, principalmente en glomerulos renales, membranas sinoviales y úvea.
- Producción y liberación de proteínas de fase aguda (CRP-Ferritina).

## CUADRO CLINICO

Si hay algo que caracteriza a la Leishmaniosis es su polimorfismo clínico debido a la gran cantidad de mecanismos patogénicos que participan en el desarrollo de la enfermedad. La Leishmaniosis tiene un inicio insidioso y un curso crónico, desarrollándose durante semanas a meses.

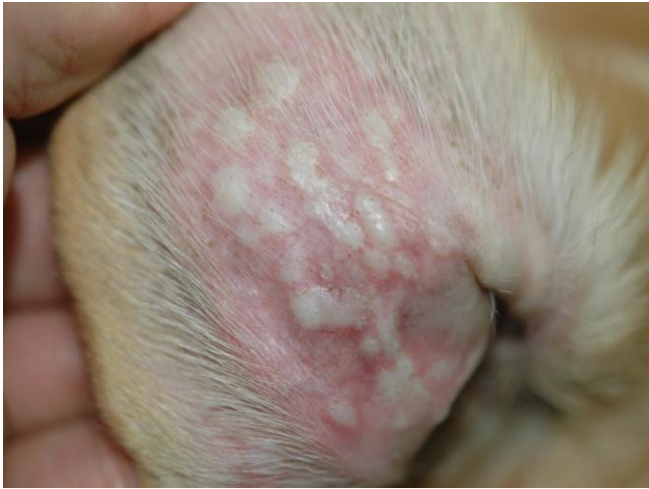
Existen una serie de factores que están íntimamente relacionados con el desarrollo y evolución de la enfermedad, destacamos los siguientes:

- Raza: Los más susceptibles de padecer la enfermedad son los perros de las razas Boxer, Pastor alemán, Rottweiler, Doberman y Cocker spaniel; frente al Podenco ibicenco como raza más resistente.

- Edad: La enfermedad tiene una presentación bimodal, de manera que aparece con mayor frecuencia antes de los 3 años y después de los 8 años.
- Alimentación y condiciones de manejo inadecuadas
- Carga parasitaria de Leishmanias
- Virulencia de la cepa de Leishmania
- Estados de inmunosupresión
- Forma de transmisión por la vía natural o a través de transfusiones sanguíneas. La enfermedad es más grave cuando la transmisión es intravenosa.
- Enfermedades asociadas

Los signos que con mayor frecuencia vamos a encontrar en los perros afectados de Leishmaniosis son los siguientes:

- Lesiones cutáneas muy variadas: Chancros de inoculación, dermatitis exfoliativa localizada o generalizada, dermatitis ulcerativa, dermatitis pápulo-costrosa o dermatitis nodular. Hiperqueratosis naso-digital, nódulos o afectación mucocutánea.
- Signos generales inespecíficos: Adelgazamiento, fiebre y atrofia muscular
- Linfadenopatías
- Epistaxis
- Vasculitis
- Afección renal, principalmente insuficiencia renal crónica.
- Afección hepática
- Onicogriposis
- Poliartritis
- Afecciones oculares: Blefaroconjuntivitis y uveítis.
- Gastroenteritis crónicas
- Signos neurológicos
- Signos clínico-patológicos en análisis de sangre:
  - o Anemia no regenerativa
  - o Anemia hemolítica inmunomediada
  - o Trombocitopenia
  - o Signos de afección hepática: > ALT
  - o Signos de afección renal: > de urea y creatinina
  - o Alteraciones del proteinograma: Hipoalbuminemia e hiperglobulinemias con hipergammaglobulinemia.
  - o Aumento proteínas de fase aguda: CRP y Ferritina.
- Signos clínico-patológicos en análisis de orina:
  - o Proteinuria
  - o UPC elevado < 0,5
  - o < Densidad urinaria
  - o < Osmolaridad



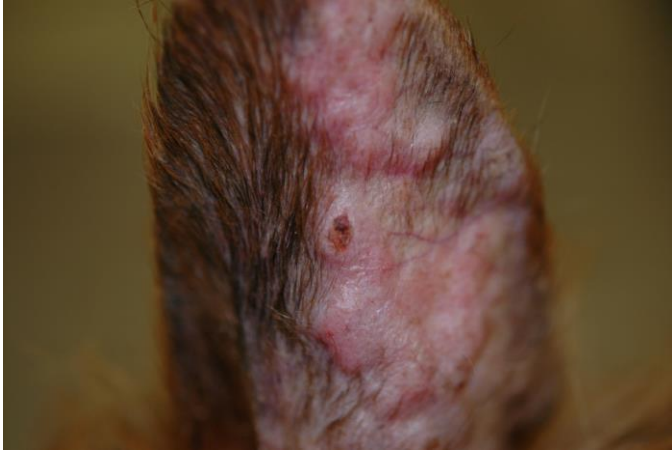
Chancros de inoculación



Dermatitis exfoliativa



Dermatitis ulcerativa



Dermatitis nodular



Dermatitis papulo-costrosa



Leishmaniosis visceral: Insuficiencia renal

## DIAGNOSTICO

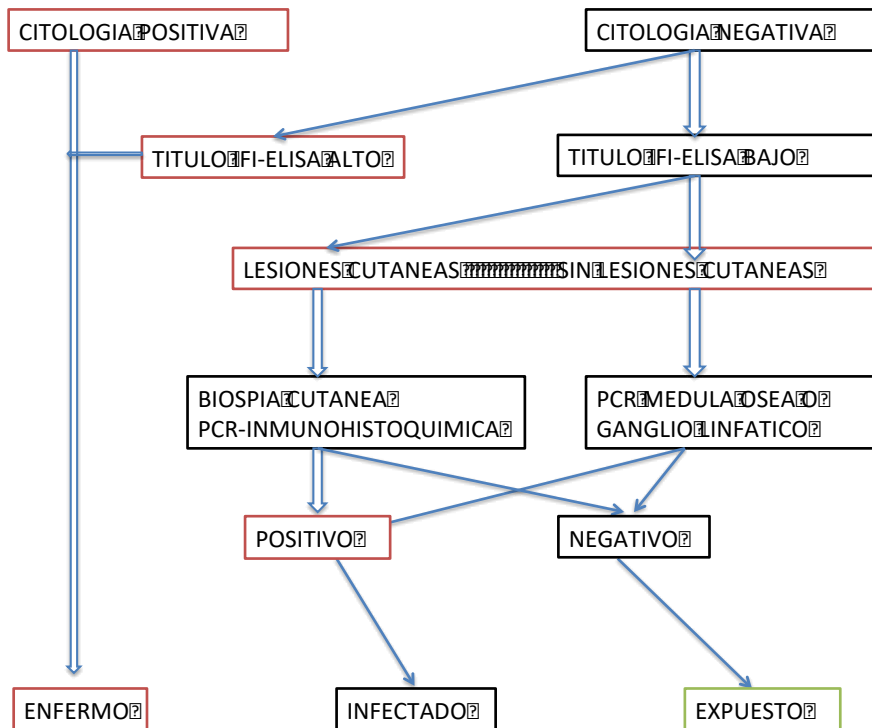
Principal problema debido al polimorfismo clínico de la enfermedad. El diagnóstico se basa en la valoración de las características propias del animal, historia clínica, manifestaciones clínicas y analíticas compatibles con la enfermedad.

Para confirmar la enfermedad podemos recurrir a varios procedimientos:

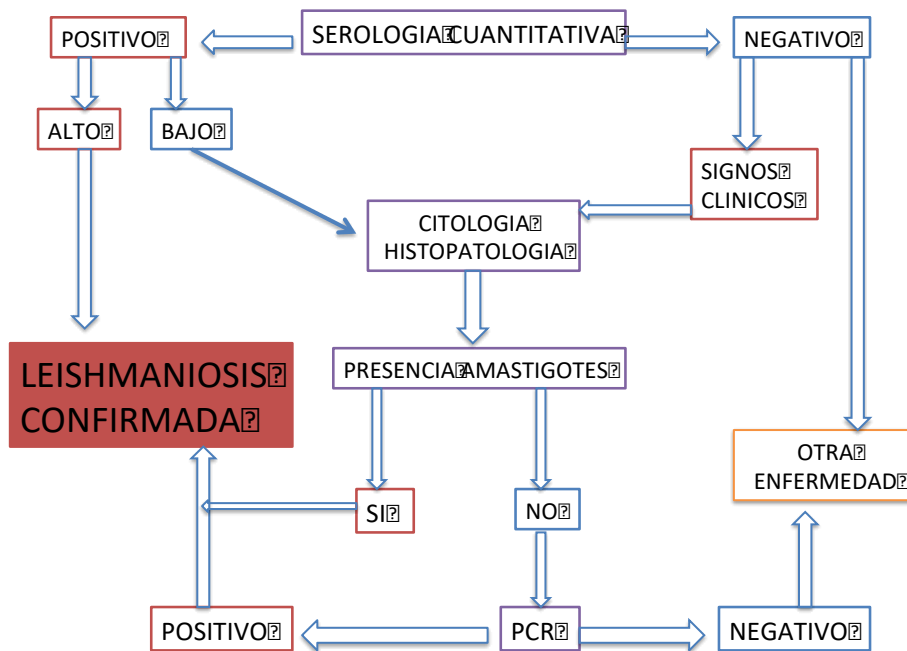
- Citología de punciones de médula ósea y/o ganglios linfáticos.
- Citología de lesiones cutáneas.
- Biopsia cutánea y tinciones inmunohistoquímicas
- Test rápido cualitativo basado en técnicas de inmunomigración. Tienen una buena especificidad pero baja sensibilidad (30-70%). Son muy frecuentes los falsos negativos. Se recomienda confirmar y cuantificar la tasa de anticuerpos mediante otras técnicas serológicas (IFI-ELISA) con una mayor sensibilidad (90-92%).
- Serología: Principalmente IFI o ELISA, para cuantificar la tasa de anticuerpos que en un principio podría estar relacionada con el grado de enfermedad. Un título alto es signo de enfermedad, pero un título bajo es signo de infección pero no de enfermedad. Los resultados hay que interpretarlos junto con el resto de hallazgos clínicos. Es importante que el laboratorio de referencia siempre facilite el punto de corte de los negativos, dudosos y positivos. Se considera un título bajo cuando supera de 1 a 2 veces el punto de corte, y un título alto de anticuerpos cuando supera 3-4 veces el punto de corte positivo más bajo. Hay que tener en cuenta que la seroconversión puede producirse entre 1 y 22 meses (5 de media) en infección natural y de 1 a 6 meses en infección experimental.
- PCR: Es el método más sensible al tener una sensibilidad y especificidad del 100%. Procedimiento más útil para el diagnóstico de los animales dudosos en serología convencional y con síntomas compatibles de enfermedad. Una PCR positiva significa infección, sin embargo una PCR negativa no excluye la enfermedad al 100% por la dificultad a la hora de elegir la muestra (Líquidos orgánicos, secreciones, raspados y biopsias). Existe la posibilidad de realizar una PCR cuantitativa que nos permita conocer la carga parasitaria y comprobar su evolución a lo largo del tratamiento. Es importante contactar con el laboratorio de referencia para que nos indique las condiciones de manejo y envío de las muestras.



Cuadro 2: El grupo de trabajo de Leishmaniosis recomienda el siguiente protocolo de diagnóstico en Leishmaniosis:



Cuadro 3: El grupo Leishvet recomienda seguir el siguiente protocolo de diagnóstico en animales con signos clínicos compatibles con la enfermedad:



## **DIAGNOSTICO DIFERENCIAL**

Una vez más incidimos en la gran variabilidad de manifestaciones clínicas de la enfermedad por lo que en las zonas endémicas siempre va a estar presente en los diagnósticos diferenciales. Los procesos que hay que tener más en cuenta son la Demodicosis canina generalizada, Endocrinopatías, Afecciones autoinmunes, Dermatitis alérgicas y Dermatofitosis.

En ocasiones nos encontramos con animales que comparten junto con la Leishmaniosis otras enfermedades asociadas que pueden comprometer la vida del animal como es el caso de la Ehrlichiosis.

## **CLASIFICACION CLINICA**

La Leishmaniosis canina se clasifica en cuatro estadios clínicos en función de los signos clínicos, título de anticuerpos y hallazgos de laboratorio con especial atención a la aparición o no de afección renal siguiendo los criterios de la Sociedad Internacional de Interés Renal (IRIS).

Existen dos clasificaciones aportadas por el Grupo de Trabajo en Leishmaniosis Canina (CLWG) y el grupo LEISHVET, que pretenden unificar criterios de decisión para intentar diagnosticar correctamente la enfermedad, elegir la terapia más adecuada y establecer un pronóstico preciso.

### **CLASIFICACION GRUPO DE TRABAJO DE LEISHMANIOSIS CANINA (CLWG):**

#### **ESTADIO A: EXPUESTO**

- Citología negativa en médula ósea y ganglio
- PCR negativa
- Título bajo de anticuerpos
- Pronóstico favorable con anticuerpos circulantes transitorios.

#### **ESTADIO B: INFECTADO**

- Citología positiva
- PCR positiva
- Título de anticuerpos bajo
- Signos de otras enfermedades
- Pronóstico favorable
- 30-70% de perros desarrollan signos clínicos a los 2-3 años del diagnóstico

En zonas endémicas un positivo, en ausencia de lesiones, puede no ser suficiente para considerarlo infectado.

#### **ESTADIO C: ENFERMO**

- Citología positiva
- Título de anticuerpos alto
- Signos clínicos evidentes de leishmaniosis
- Pronóstico variable en función de las alteraciones clinicopatológicas al iniciar el tratamiento (IRIS I-II: Pronóstico bueno)

#### ESTADIO D: SEVERAMENTE ENFERMO

- Proteinuria o enfermedad renal crónica
- Afecciones oculares o articulares graves
- Coinfecciones, neoplasias, enfermedades endocrinas o metabólicas.
- Pronóstico desfavorable IRIS III-IV.

#### CLASIFICACION GRUPO LEISHVET:

##### ESTADIO I:

- Título de anticuerpos negativo o positivo bajo
- Signos clínicos: Cutáneos a modo de dermatitis papular, linfadenopatía.
- Hallazgos de laboratorio: No anormalidades, Creatinina <1,4 mg/dl, UPC <0,2
- Gravedad: leve
- Pronóstico: Bueno

##### ESTADIO II:

- Título de anticuerpos: Positivo medio
- Signos clínicos: Cutáneos, linfadenopatía, anorexia, pérdida de peso, fiebre epistaxis.
- Hallazgos de laboratorio: Anemia, Hiperproteinemia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Creatinina <1,4 mg/dl, UPC:0,2-0,5
- Gravedad: Moderada
- Pronóstico: Bueno-reservado

##### ESTADIO III:

- Título de anticuerpos: Positivo medio-alto
- Signos clínicos: Los anteriores y signos compatibles con inmunocomplejos (Vasculitis, artritis, uveítis, glomerulonefritis).
- Hallazgos de laboratorio: Anormalidades estadio II. Además IRIS I (creatinina <1,4mg/dl, UPC>0,5, IRIS II (Creatinina 1,4-2 mg/dl, UPC>0,5
- Tratamiento renal
- Gravedad: Grave
- Pronóstico: Reservado-pobre

##### ESTADIO IV

- Título de anticuerpos: Positivo medio-alto
- Signos clínicos: Los anteriores. Además insuficiencia renal grave, síndrome nefrótico, tromboembolismo pulmonar.
- Hallazgos de laboratorio: Anormalidades estadio III. Además IRIS III (creatinina 2-5 mg/dl, UPC>0,5), IRIS IV (Creatinina >5 mg/dl, UPC>0,5). En casos de síndrome nefrótico UPC>5.
- Gravedad: Muy grave
- Pronóstico: Malo

## **TRATAMIENTO Y PRONOSTICO**

El tratamiento se debe de realizar en función de la clasificación clínica de la enfermedad del animal. Si adoptamos la clasificación del grupo LEISHVET:

Estadio I: Monitorización o tratamiento..

Estadio II y III: Tratamiento.

Estadio IV: Tratamiento paliativo.

Los distintos protocolos de tratamiento incluyen las siguientes dosis:

- Alopurinol: 10-15 mg/kg/12 horas hasta la desaparición de los síntomas. Normalmente se utiliza entre 6 a 18 meses. El alopurinol interfiere el metabolismo de los ácidos nucleicos al no poder sintetizar el parásito bases púricas.
- Antimoniato de meglumina (Glucantime®): 50 mg/kg/12 horas subcutáneo durante 30 a 60 días. Inhibe la glucolisis en el parásito al inhibir la enzima fosfofructoquinasa.
- Miltefosina (Milteforan®): 2 mg/kg/24h vía oral durante 28 días. Inhibe la síntesis de fosfolípidos en el parásito.

El tratamiento que con mayor frecuencia se utiliza en la actualidad es el siguiente:

- Antimoniato de meglumina (Glucantime®): 100 mg/kg/24 horas durante 30 días. Si es posible 50 mg/kg/12 horas.
- Alopurinol: 10 mg/kg/12 horas hasta la desaparición de los síntomas, mínimo 6 meses.

Además es conveniente utilizar tratamientos coadyuvantes para evitar o mejorar la insuficiencia renal (Recomendaciones IRIS) o hepática, para corregir o mejorar el estado de la piel, para corregir la alimentación mediante dietas específicas y complejos vitamínicos que faciliten la recuperación.

Con este protocolo observamos una mejoría en un 80% de los animales tratados a los 2 meses del inicio y de un 90% a los 3 meses. La curación completa de la infección es una excepción de manera que es casi imposible conseguir la esterilidad. Después del tratamiento es frecuente observar recidivas entre los 12 y 18 meses. También observamos perros que no responden a la terapia de mantenimiento con alopurinol por la aparición de resistencias. Algunos perros presentan curación clínica durante 5-7 años.

## **CONTROL DE LA ENFERMEDAD**

En la Leishmaniosis es muy importante monitorizar todos los signos clínicos y clinicopatológicos, especialmente aquellos que hacen referencia a la valoración de la funcionalidad renal, porque nos van a aportar información para comprobar la evolución de la enfermedad y establecer un pronóstico apropiado.

Para el control de la enfermedad debemos de monitorizar a los animales enfermos y sanos mediante controles periódicos, inducir inmunidad protectora en los animales e impedir que los flebótomos piquen a los hospedadores.

Es muy importante monitorizar a los animales enfermos que estamos tratando para comprobar el curso que sigue la enfermedad. Es necesario realizar análisis de sangre y orina al mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses del inicio del tratamiento. En años sucesivos una o dos analíticas completas.

Es frecuente observar que se realizan controles periódicos para comprobar los niveles de anticuerpos como control de la enfermedad. Pueden ser útiles pero hay que tener en cuenta que los anticuerpos no descienden hasta aproximadamente los tres meses de tratamiento y que en algunos casos pueden persistir niveles altos durante años a pesar de que el animal no presente síntomas clínicos aparentes. Siempre hay que interpretarlos junto con el resto de hallazgos clínicos.

Las Proteínas de Fase Aguda (PFA) pueden ser una buena opción para monitorizar a los enfermos, principalmente aquellas proteínas consideradas como positivas mayores. Nosotros hemos comprobado como la Proteína C-reactiva (CRP) y la Ferritina aumentan considerablemente en función del grado de enfermedad y disminuyen posteriormente a medida que van desapareciendo los signos clínicos con el tratamiento. Además cuando aparecen recidivas los niveles de CRP y ferritina aumentan lo que nos permite conocer el nivel de actividad de la enfermedad. El único problema es que no es una proteína específica de enfermedad y hay que valorar posibles procesos asociados.

La PCR cuantitativa puede ser una buena opción para conocer en todo momento la carga parasitaria en el animal (baja, media y alta). Se recomienda al mes del tratamiento, a los 6 meses y una vez al año. Es necesario que se estandaricen los resultados obtenidos.

No hay que dejar animales enfermos sin tratar porque son una fuente importante de contagio.

En los animales sanos no infectados se recomienda realizar un test serológico cada 6 meses para comprobar la ausencia de anticuerpos frente a Leishmania.

Podemos utilizar como medida preventiva domperidona (Leisguard®) a dosis de 0,5 mg/kg/12 horas durante 30 días dos veces al año (Junio y Octubre). La domperidona es un antagonista de la dopamina mediante el bloqueo de los receptores dopaminérgicos D2 a nivel periférico. Este bloqueo estimula la producción de prolactina que a su vez interacciona con células del sistema inmune que tienen receptores de prolactina contribuyendo al efecto inductor de inmunidad celular..

Canileish® y Letifend® son las dos vacunas disponibles en Europa para el control de la Leishmaniosis porque ninguna de ellas previene la infección. Ambas se utilizan para reducir la probabilidad de desarrollar la enfermedad o en caso de padecerla que el grado de la misma sea menor.

A la hora de decidir si aplicamos las vacunas hay que tener en cuenta el compromiso del beneficio/riesgo. Teniendo en cuenta que la probabilidad de desarrollar

la enfermedad depende en un 60% de la genética del animal, podemos enfrentarnos distintas situaciones. Consideraremos la vacunación en función de la zona, raza y edad de los animales.

Debido a las características de los flebótomos y del biotopo que utilizan es muy difícil atacar al mosquito en su ámbito natural por lo que tenemos que recurrir a productos que se puedan aplicar directamente sobre el hospedador. En este sentido en el mercado disponemos de insecticidas repelentes a modo de pulverizadores, collares y pipetas spot-on. Los más utilizados son los collares Scalibor® y Seresto® y las pipetas Advantix® Tri-Act® y Vectra3D®. Con la utilización de collares y pipetas las tasas de protección descritas se encuentran entre el 72,3-93,4%, según los estudios realizados.

Otras medidas que aplican los propietarios de los animales es evitar pasear con los perros en las horas de máxima actividad de los flebótomos, utilización de barreras protectoras a base de telas mosquiteras especiales (0,3-0,4 mm<sup>2</sup>) para impedir que el mosquito penetre en las viviendas. Ventiladores en las zonas de descanso de los animales que simulan el viento, sistemas de pulverización de agua con repelentes, ultrasonidos, aplicación de insecticidas en zonas ajardinadas, etc.

## **ZOONOSIS**

La leishmaniosis canina es una zoonosis y un problema sanitario importante al afectar de forma oportunista a personas con su sistema inmunitario comprometido por otras enfermedades o tratamientos. Hay que informar a los propietarios de la importancia de la enfermedad y de la necesidad de no dejar a los animales enfermos sin tratar.

## **BIBLIOGRAFIA**

Solano-Gallego L, Miro G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bordeau P, Oliva G, Baneth G. 2009. Direction for the diagnosis, clinical and prevention of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.* 28; 165 (1-2): 1-18.

Solano-Gallego L, Miro G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bordeau P, Oliva G, Baneth G. 2011. Leishvet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors* . 20; 4:86.

Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zatelli A. 2010. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *JAVMA* 236 (11): 1184-1191.

Lamothe J. 2010. Some remarks about the Leishvet direction for the treatment of canine leishmaniasis. *Vet. Parasitol.* 11; 163(3-4): 416-7.

Clarisa B, Palatnik-de-Sousa. 2012. Vaccines for canine leishmaniasis. *Front Immunol* 3:69.

Torres M, Bardagi M, Roura X, Zanna G, Ravera I, Ferrer L. 2010. Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet J.* 188(3): 346-51.

- Miro G, Oliva G, Cruz I, Cañavate C, Montarino M, Vicher C, Bianciardi P. 2009. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Vet. Dermatol.* 20 (5-6): 397-404
- Martinez V, Quilez J, Sanchez A, Roura X, Francino O, Altet L. 2011. Canina Leishmaniasis: the key point for qPCR result interpretation. *Parasit Vectors.* 13; 4:57.
- Miro G, Galvez R, Fraile C, Descalzo MA, Molina R. 2011. Infectivity to phlebotomus perniciosus of dog naturally parasitized with leishmania infantum after different treatment. *Parasitit Vectors.* 13; 4:52.
- Martínez-Subiela S, Pardo-Marín L, Tecles F, Baneth G, Ceron JJ. 2016. Serum-C-reactive protein and ferritin concentrations in dogs undergoing leishmaniosis treatment. *Research in Veterinary Science* 109: 17-20.
- Yasur-Landau D, Jaffe CL, David L, Baneth G, 2016. Allopurinol resistance in leishmania infantum from dogs with disease relapse. *Plos Negl Trop Dis.* 6:1-9.
- Roura X, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Maroli M, Oliva G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E. 2013. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *The Veterinary Journal* 198: 43-47.
- Kaszak I, Planellas M, Dworecka-Kaszak B. 2015. Canine leishmaniosis-an emerging disease. *Ann Parasitol* 61(2): 69-76.
- Maciel M, Forges F, Pain A, Barbosa J, Loureiro G, Werneck L, Ferreira E, Sierra G. 2016. Sensitivity and specificity of parallel or serial serological testing for detection of canine leishmania infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol 113(3): 168-173.
- Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Falsone L, Prudente Ch, Solari F, Latrofa M, Tarallo V, Dantas-Torres F, Capelli G, Stanneck D, Gianetto S, Otranto D. 2014. Efficacy of a slow-release imidacloprid (10%) flumethrin (4,5%) collar for the prevention of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors* 7: 327.
- Manzillo F, Oliva G, Pagano A, Manna L, Maroli M, Gradoni L. 2006. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of leishmania infection in kennelled stray dogs. *Vet. Parasitol* 142(1-2): 142-5.
- Otranto D, Paradies P, Lia RP, Latrofa MS, Testini G, Cantacessi C, Mencke N, Galli G, Capelli G, Stanneck D. 2007. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevencion of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Vet Parasitol* 144 (3-4):270-8.
- Gradoni L. 2015. Canine Leishmania vaccines: still a long way to go. *Vet Parasitol* 208(1-2):94-100.