



Universidad
Católica de
Valencia
San Vicente Mártir

TFG

TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

CARACTERIZACIÓN DE LEISHMANIASIS CANINA EN UN HOSPITAL DE REFERENCIA VETERINARIO: ESTUDIO RETROSPECTIVO.

Alumna: Claudia López García

Tutora: Anna Vila Soriano

2023-2024



Facultad de Veterinaria
y Ciencias Experimentales
Universidad Católica de Valencia
San Vicente Mártir

Caracterización de leishmaniasis canina en un hospital de referencia veterinario: estudio retrospectivo.

*A mi familia, por su apoyo incondicional en todo momento. Por confiar en mí y no dejar que el miedo
me ganara.*

*A Pablo, la persona que más me inspira. Por entenderme, ayudarme y valorarme desde el primer
momento.*

*A Cris y Andrea, por hacer más bonitos estos años, por alegraros siempre y sinceramente de mis
logros, por ser las mejores compañeras de profesión que podré tener.*

Caracterización de leishmaniasis canina en un hospital de referencia veterinario: estudio retrospectivo.

Tabla de contenido

ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ABREVIATURAS	IX
1. RESUMEN / ABSTRACT	1
1.1. RESUMEN.....	1
1.2. ABSTRACT	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1. RESUMEN DEL ESTUDIO.....	10
4.2. SELECCIÓN DE CASOS Y COLECCIÓN DE DATOS	10
4.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	10
4.4. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL, DEMOGRAFÍA Y PRESENTACIONES CLÍNICAS	11
4.5. TRATAMIENTO Y COMPLICACIONES.....	12
<i>Tratamiento</i>	12
<i>Protocolo de tratamiento</i>	12
<i>Complicaciones</i>	13
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	13
5. RESULTADOS	15
5.1. NÚMERO DE CASOS	15
5.2. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL	15
5.3. DEMOGRAFÍA.....	15
5.4. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y SEROLÓGICAS.....	16
5.5. PRESENTACIÓN CLÍNICA.....	17
<i>Alteraciones analíticas</i>	17
<i>Síntomas y estadiaje</i>	20
5.6. TRATAMIENTO Y COINFECCIONES	21
<i>Tratamiento</i>	21
6. DISCUSIÓN	24
6.1. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL	24
6.2. DEMOGRAFÍA.....	24
6.3. TÉCNICA DIAGNÓSTICA.....	25
6.4. PRESENTACIONES CLÍNICAS	26

6.5.	TRATAMIENTO Y COINFECCIONES.....	30
7.	CONCLUSIONES	34
8.	BIBLIOGRAFÍA	35

Índice de figuras

FIGURA 1. EL CICLO DE VIDA DE <i>L. INFANTUM</i> CON INDICACIÓN DE RUTAS DE TRANSMISIÓN A PERROS PROBADAS Y NO COMPROBADAS SIN FLEBÓTOMOS. RECUPERADA DE: LEISHVET GUIDELINES FOR THE PRACTICAL MANAGEMENT OF CANINE LEISHMANIOSIS. 2011	3
FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DEL NÚMERO DE CASOS DIAGNOSTICADOS POR MES. NÚMERO TOTAL DE CASOS = 41.	15
FIGURA 3. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DEL NÚMERO DE CASOS DIAGNOSTICADOS POR AÑO. NÚMERO TOTAL DE CASOS = 41.	15
FIGURA 4. RECUENTO DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS SEGÚN EL GRADO DE SEROPOSITIVIDAD EN LA PRUEBA ELISA.	17
FIGURA 5. RELACIÓN ENTRE EL TÍTULO DE AC CON LA APARICIÓN DE ANEMIA EN EL HEMOGRAMA.	18
FIGURA 6. RELACIÓN RESULTADOS AC CON EL TIPO DE TRATAMIENTO ANTILEISHMANIA APLICADO.	19
FIGURA 7. RELACIÓN DEL RESULTADO AC CON EL ESTADÍO DE LA ENFERMEDAD.....	19
FIGURA 8. RECUENTO DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS POR TIPO DE SINTOMATOLOGÍA PRESENTADA EN EL MOMENTO DE LA PRIMERA CONSULTA EN EL HV UCV. TOTAL DE CASOS = 41.....	20
FIGURA 9. RECUENTO DEL NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS POR ESTADÍO DE LA ENFERMEDAD. TOTAL DE CASOS= 41.	21
FIGURA 10. CASOS AGRUPADOS SEGÚN PROTOCOLO DE TRATAMIENTO APLICADO, SIENDO 1 = SÓLO LEISHMANIOSTÁTICO O INMUNOMODULADOR; 2 = SÓLO LEISHMANICIDA; 3 = LEISHMANICIDA Y LEISHMANIOSTÁTICO O INMUNOMODULADOR; 4 = LEISHMANICIDA, LEISHMANIOSTÁTICO E INMUNOMODULADOR.	21
FIGURA 11. PORCENTAJE DE FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIA EN EL HV UCV.	22
FIGURA 12. REPRESENTACIÓN DE LOS DIFERENTES FÁRMACOS UTILIZADOS COMO TRATAMIENTO DE SOPORTE EXTRA.	23

Índice de tablas

TABLA 1. CRITERIOS DE ESTADIAJE EN PERROS AFECTADOS POR LEISHMANIA BASADO EN LA CLASIFICACIÓN ESTABLECIDA POR OLIVA ET AL., (2008).....	11
TABLA 2. RECuento DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS POR SEXO.....	16
TABLA 3. RECuento DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS POR RAZA.....	16
TABLA 4. RECuento DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS SEGÚN TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADAS.....	16
TABLA 5. RECuento DE NÚMERO DE CASOS AGRUPADOS POR AGENTE INFECCIOSO QUE CAUSA LA COINFECCIÓN Y TRATAMIENTO PAUTADO. ND= NO HAY DATOS, EN LOS CASOS EN LOS QUE SE SOSPECHABA DE COINFECCIÓN, PERO NO SE LLEGABA AL AGENTE ETIOLÓGICO.	23

Abreviaturas

- HV UCV: Hospital Veterinario Universidad Católica de Valencia.
- IFI: Inmunofluorescencia indirecta.
- IFAT: Test de anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta.
- ELISA: técnica de enzimoimmunoensayo.
- ICT: Test de inmunocromatografía.
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.
- AM: antimonioato de meglumine.
- UPC: ratio Proteína/creatinina en orina.
- VD: vómitos-diarreas.
- AKI: enfermedad renal aguda.
- DX: diagnóstico.
- A/G: ratio albúmina/globulina.
- TTO: tratamiento.
- AC: anticuerpos.
- FeL: leishmaniasis felina.
- PTG: proteinograma.
- n: número.
- MO: médula ósea.
- Amoxi-clav: amoxicilina-clavulánico.

1. Resumen / Abstract

1.1. Resumen

La leishmaniasis canina es una enfermedad infecciosa transmitida por vectores, caracterizada por un cuadro clínico complejo y muy variable. Es hiperendémica en la zona de la cuenca Mediterránea, debido a la gran prevalencia de su vector, el flebótomo. Su caracterización es importante en la medicina veterinaria para poder abordar la enfermedad de manera más eficaz en cuanto a control, prevención, diagnóstico y tratamiento, ya que todos estos factores influirán en el pronóstico y la esperanza de vida del paciente infectado.

En este estudio retrospectivo se evaluó una población canina de 41 pacientes del Hospital Veterinario de la Universidad Católica de Valencia (HV UCV), que llegaban referidos por sus centros veterinarios habituales o con motivo de urgencia, y a los que se les diagnosticó leishmaniasis. Los datos obtenidos de las pruebas diagnósticas se estudiaron junto con parámetros analíticos (proteínograma (PTG), ratio albúmina/globulina (A/G), anemia, trombocitopenia, leucograma, azotemia, proteinuria, coinfecciones), demográficos (sexo y raza), la fecha de presentación y el tratamiento, para poder caracterizar la presentación clínica de la leishmaniasis en hospitales de referencia.

El análisis estadístico reveló la correlación positiva entre el nivel de anticuerpos (AC) y el grado de parasitemia sobre la presencia de anemia ($p= 0.004279$), el tratamiento utilizado ($p= 0.00228$) y el estadio de la enfermedad ($p= 0.0000227$). Se demostró un mayor número de casos en estadio D, con síntomas sobre todo digestivos, cutáneos y ortopédicos. Los meses de mayo, agosto y noviembre tuvieron un mayor número de diagnósticos y se demostró una tendencia ascendente de casos en los últimos años.

En conclusión, este estudio demuestra la complejidad de los casos que llegan al HV UCV y permite compararlos con revisiones anteriores para poder caracterizar clínica y demográficamente a los pacientes con leishmaniasis activa y complicada. Además, introduce la necesidad de realizar un estudio prospectivo para poder realizar un seguimiento de esta población y evaluar la eficacia del tratamiento.

Palabras clave: leishmaniasis, signos, inmunomoduladores, tratamiento, glomerulopatía, resistencia antimonial, lesiones cutáneas, gammpatía.

1.2. Abstract

Canine leishmaniasis is a vector-borne infectious disease characterized by a complex and highly variable clinical presentation. It is a chronic infectious disease hyperendemic in the Mediterranean basin, where climatic conditions make this area an ideal habitat for its vector, the sandfly, due to its high prevalence. Characterization of this disease is crucial in veterinary medicine to address it more effectively in terms of control, prevention, diagnosis, and treatment, as all these factors will influence the prognosis and life expectancy of the infected patient.

In this retrospective study, a canine population of 41 patients from the Veterinary Hospital of the Catholic University of Valencia (HV UCV) was evaluated. These patients were either referred by their usual veterinary centers or presented on an emergency basis and were diagnosed with leishmaniasis. The data obtained from diagnostic tests were studied alongside analytical parameters (proteinogram [PTG], albumin/globulin ratio [A/G], anemia, thrombocytopenia, leukogram, azotemia, proteinuria, co-infections), demographic parameters (sex and breed), the date of presentation, and the treatment applied. This was done to correlate these factors and characterize the clinical presentation of typical leishmaniasis in this referral hospital.

Statistical analysis revealed a positive correlation between antibody levels and the degree of parasitemia with the presence of anemia ($p= 0.004279$), the treatment used ($p= 0.00228$), and the stage of the disease ($p= 0.0000227$). A higher number of cases were found in stage D, with symptoms primarily being digestive, cutaneous, and orthopedic. The months of May, August, and November had the highest number of diagnoses, and an upward trend in diagnoses was observed in recent years.

In conclusion, this study demonstrates the complexity of cases that arrive at HV UCV and allows for comparison with previous reviews to clinically and demographically characterize patients with active and complicated leishmaniasis. Furthermore, it introduces the necessity of conducting a prospective study to follow this population and evaluate the effectiveness of the treatment.

Key words: leishmaniasis, signs, immunomodulators, treatment, glomerulopathy, antimonial resistance, skin lesions, gammopathy.

2. Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad infecciosa sistémica y crónica, cuyo agente etiológico es un parásito protozoario del género *Leishmania* y cuya transmisión depende de la picadura de un flebótomo. Es una patología muy frecuente en zonas tropicales y subtropicales, siendo endémica en América Central y del Sur, África, India y el Mediterráneo (Galán et al., 2019). El principal hospedador de este parásito es el perro, aunque, en las últimas dos décadas, el rol del gato está empezando a adquirir gran importancia en la epidemiología de la enfermedad (actuando como reservorio), y considerándose la leishmaniasis felina (FeL) una enfermedad emergente en zonas endémicas (Nascimento et al., 2022).

Este parásito necesita dos tipos de huéspedes para completar su ciclo biológico. Por un lado, un flebótomo que actúa como vector y transmite el promastigote, la forma infecciosa flagelada, y por otro lado un mamífero, donde inocular el promastigote, desarrollándose y replicándose en la forma de amastigote intracelular (Figura 1) (Solano-Gallego et al., 2011). Los promastigotes son inoculados en el mamífero en el momento de alimentación del flebótomo, son fagocitados por el macrófago y se transforman en amastigotes intracelulares que se replican y rompen los macrófagos, liberándose e infectando a otros macrófagos. Si la respuesta inmunitaria del animal no es capaz de controlar la infección, estos amastigotes se diseminan por sangre, órganos y ganglios linfáticos, quedando infectado de forma permanente y desarrollando la enfermedad clínica.

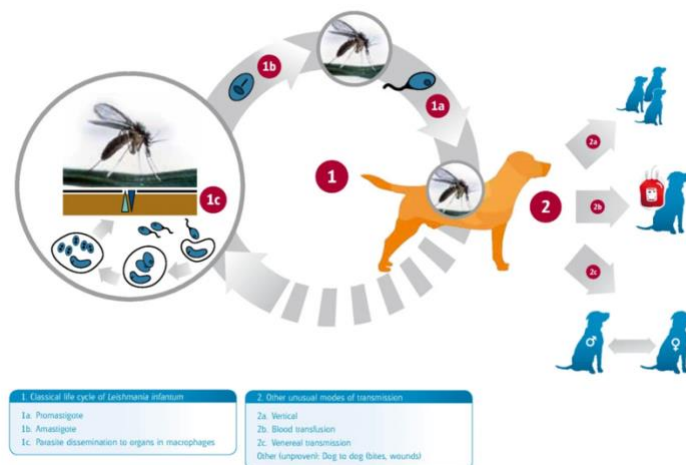


Figura 1. El ciclo de vida de *L. infantum* con indicación de rutas de transmisión a perros probadas y no comprobadas sin flebótomos. Recuperada de: LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. 2011

La presentación de la enfermedad depende de la eficacia del equilibrio entre el sistema inmunológico del hospedador y la virulencia del parásito, provocando presentaciones clínicas muy variadas. La especie canina es el principal reservorio para la especie *Leishmania infantum*, suele generarse una respuesta inmune mixta, que resulta en la acumulación de citoquinas propias tanto de la respuesta humoral como celular, y en un equilibrio que, una vez roto, conducirá a la enfermedad, eliminación o progresión (Morales-Yuste et al., 2022). La forma cutánea es la forma más común de presentación, tanto en perros como en gatos, y la forma visceral afecta a órganos como hígado, bazo, y médula ósea, además de considerarse zoonótica (Serafim et al., 2020)

La manifestación de signos clínicos o clínico patológicos comienzan a observarse desde los 3 meses hasta los 7 años post-infección. Los síntomas suelen ser inespecíficos como pérdida de peso, lindafenopatía o esplenomegalia (Galán et al., 2019). La mayoría de los perros que cursan con sintomatología presentan anorexia y caquexia. Los principales signos cutáneos incluyen descamación de la piel, lesiones nodulares ulcerativas y pustulosas y dermatitis exfoliativa, así como alopecia, y reacciones eritematosas. También se han descrito síntomas oculares como la uveítis, blefaritis y conjuntivitis. La onicogriposis, o una dermatitis mononuclear liquenoide. En el caso de la linfadenopatía, es una característica muy común en los perros sintomáticos, así como la esplenomegalia. El bazo junto a la médula ósea y la piel, es unos de los órganos diana de esta infección, debido a esto, se ha descrito la aparición de anemia no regenerativa como la alteración hematológica más común (60% de los pacientes la sufre). Por otra parte, también se ha descrito como causa de pancitopenia y aplasia medular, que conducen a trastornos hematológicos y de coagulación (Morales-Yuste et al., 2022).

No obstante, órganos como el riñón, el hígado o el páncreas también se ven afectados en la mayoría de los casos. En el caso del riñón, se produce una glomerulopatía que se caracteriza por el desarrollo de una proteinuria marcada y una glomerulonefritis, que puede progresar hasta la insuficiencia renal, sobre todo por la deposición de inmunocomplejos a lo largo del curso de la enfermedad. De hecho, la insuficiencia renal es la principal causa de muerte en la leishmaniasis canina (Morales-Yuste et al., 2022). La evaluación de la función renal la haremos mediante la medición de la creatinina, nitrógeno ureico, fósforo inorgánico en sangre, y la gravedad específica de la orina, ya que la aparición de azotemia es factor pronóstico de la enfermedad (Noli & Saridomichelakis, 2014)

El sistema nervioso también se ve afectado por *Leishmania sp.*, aunque es una presentación rara tanto en humanos como en perros y hay poca literatura publicada. Según el estudio de Giannuzzi et al., (2017), parece haber una relación entre la progresión de la infección y la permeabilidad de la

barrera hematoencefálica, que permite la deposición de inmunocomplejos, inmunoglobulinas y antígenos, es por esto que, en este estudio, las lesiones inflamatorias y complicaciones vasculares son los principales hallazgos responsables de los signos neurológicos en perros infectados con *Leishmania*. Existen también otras alteraciones presentes en perros con leishmaniasis sintomáticos o asintomáticos como la meningoencefalitis linfoplasmocelular o la vasculitis del sistema nervioso central, pero en muchos de estos estudios no se logra confirmar la presencia del parásito en el tejido nervioso (Giannuzzi et al., 2017)

La colitis se describe como un signo habitual en perros infectados por *Leishmania Infantum*, Adamama-Moraitou et al., (2007), demostraron en su estudio la aparición de lesiones inflamatorias en la mucosa colónica debido al parasitismo colónico, y sugieren incluir en los diagnósticos diferenciales de los perros con colitis crónicas la leishmaniosis. Además, se ha visto que, en los canes afectados por leishmaniasis visceral, pueden llegar a tener presencia de amastigotes de *Leishmania* en todas las capas de su intestino delgado y grueso, alterando la digestión de alimentos y absorción de los nutrientes. (Silva et al., 2016)

Es importante recordar que otro de los órganos diana es la médula ósea, esto conlleva a una serie de cambios como anemia no regenerativa, trombocitopenia, neutrofilia o neutropenia, trastornos inmunomediados o pancitopenia. Por otro lado, la poliartritis es un síntoma frecuente que causa cojeras e intolerancia al ejercicio, observando lisis periarticular y proliferación perióstica. También es esperable encontrar hiperglobulinemia policlonal (beta y gamma), hipoalbuminemia, descenso del ratio A/G y proteinuria glomerular en las analíticas (Baneth & Solano-Gallego, 2022)

Para diagnosticar la leishmaniosis, es necesario realizar un diagnóstico laboratorial, no obstante, con la anamnesis y los signos clínicos podemos empezar a sospechar de la enfermedad. La confirmación se realiza mediante métodos directos e indirectos: moleculares, parasitológicos y serológicos (Morales-Yuste et al., 2022)

Con los métodos parasitológicos, se consigue observar a los microorganismos dentro de los macrófagos de los ganglios linfáticos, aspiraciones esplénicas o líquido articular (Galán et al., 2019). Se han encontrado sensibilidades del 52 al 85% para la médula ósea y del 52 al 58% para los aspirados de ganglios linfáticos (Morales-Yuste et al., 2022). La técnica de la histología presenta más dificultades que la citología en cuanto a que es más laboriosa y requiere más tiempo, además de experiencia y buena técnica, por lo que la identificación de amastigotes puede llegar a ser más complicada. No obstante, tiene la ventaja de proporcionar información sobre el patrón de la lesión, lo que permite

distinguir entre lesiones típicas de la enfermedad y aquellos animales en los que la lesión no está asociada a la enfermedad (Morales-Yuste et al., 2022).

Por otro lado, la técnica molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha permitido aumentar la sensibilidad y es, ahora mismo, una herramienta muy útil para la identificación de *Leishmania*, ya que, además de su sensibilidad y especificidad, tiene la ventaja de poder analizar una variedad amplia de muestras como biopsias, hisopos de sangre, conjuntivales o pelos. No todas tienen la misma sensibilidad y especificidad, y elegir la técnica más adecuada puede llegar a ser una tarea compleja. Sin embargo, se ha visto que la PCR cuantitativa permite tanto el diagnóstico como el seguimiento de la carga parasitaria durante y después del tratamiento, permitiendo predecir recaídas asociadas a parásitos residuales (Morales-Yuste et al., 2022).

Respecto a las técnicas de detección indirecta de la enfermedad, se utiliza como método de referencia para estimar la prevalencia la técnica serológica de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) o la técnica de enzoinmunoensayo (ELISA) (Morales-Yuste et al., 2022). Las técnicas serológicas, concretamente IFAT o ELISA, son técnicas muy utilizadas en el diagnóstico y monitorización de la *Leishmania*. Miden la respuesta humoral específica. No obstante, esta técnica presenta algunos inconvenientes, ya que no permite diferenciar entre exposición e infección activa. Por estos motivos, en zonas hiperendémicas lo ideal para mejorar el diagnóstico es combinar IFAT con otras pruebas no inmunológicas, o monitorizar esta respuesta inmune. (Morales-Yuste et al., 2022). Como indican Paltrinieri et al., (2016), la técnica ELISA, que es de las más utilizadas por la facilidad de estandarización de los resultados, indica que un nivel de anticuerpos alto (4 veces el umbral), indica una infección activa y un estadio avanzado de la enfermedad.

Existen diferentes formas de estadios de la enfermedad, aunque ninguna ha demostrado ser superior a las demás (Meléndez-Lazo et al., 2018) Por un lado, está la clasificación de LeishVet (Solano Gallego et al., 2011), donde estadificaron la enfermedad clasificándola en 4 estadios: estadio I (enfermedad asintomática a leve): en este estadio la serología es desde negativa a positiva con títulos bajos de anticuerpos, los signos clínicos son leves como dermatitis o linfadenomegalia; estadio II (enfermedad moderada): en esta etapa, los títulos de anticuerpos son entre bajos y altos y presenta signos clínicos más evidentes como dermatitis exfoliativa, anorexia y pérdida de peso, onicogriposis, epistaxis, además de los signos presentados en el estadio I; estadio III (enfermedad grave asociada con enfermedad renal crónica): títulos de anticuerpos normalmente altos, con síntomas como vasculitis, artritis, uveítis y glomerulopatía, además de los presentados en las etapas I y II; y estadio IV (enfermedad muy grave con síndrome nefrótico), en esta etapa encontramos títulos de anticuerpos

altos, con síntomas como tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótico y enfermedad renal grave, además de los presentados en la etapa III. El pronóstico depende del estadio en el que se encuentre el animal, siendo bueno en el estadio I, reservado en los estadios II y III, y malo en el estadio IV. Aunque muchos artículos mencionan esta clasificación, en este estudio se utilizará la del G.S.L.C (2008).

El G.S.L.C, en 2008, estableció 5 estadios (A, B, C, D y E). El estadio A, pertenece a un grupo de animales que han sido expuestos, es decir, presentan títulos de anticuerpos específicos, sin ser 4 veces superiores al valor umbral del laboratorio de referencia, pero las pruebas diagnósticas son negativas y no presentan alteraciones clínico-patológicas; el estadio B son animales infectados, aquellos en los que se puede diagnosticar el parásito pero no presenta alteraciones clínico-patológicas; el estadio C pertenece a los canes enfermos, aquellos que ya presentan alteraciones clínico-patológicas atribuibles a leishmaniasis y se demuestran anticuerpos superiores a 4 veces el valor umbral del laboratorio de referencia; el estadio D son perros enfermos con cuadro clínico grave, que presentan nefropatía proteinúrica, insuficiencia renal crónica, enfermedades oculares graves que pueden provocar pérdida funcional y/o requerir terapias inmunodepresoras, enfermedades articulares graves que pueden invalidar la función motora y/o requerir terapias inmunodepresoras, enfermedades concomitantes graves, de naturaleza infecciosa, parasitaria, neoplásica, endocrina o dismetabólica; por último, el estadio E se divide en estadio Ea (refractario), que es aquel animal enfermo refractario al tratamiento y el Eb (recidivante), aquel animal sometido a tratamiento, con recidiva precoz (Oliva et al., 2008). Esta clasificación será la que utilizemos en este estudio.

En cuanto al tratamiento, es importante recalcar que la eliminación completa del parásito es extremadamente poco frecuente, pero sí es posible reducir la carga parasitaria hasta niveles asintomáticos. Para ello, existen diferentes terapias, actualmente el tratamiento de elección suele ser la combinación entre un fármaco con propiedades leishmanicidas y uno leishmanioestático, junto con algún inmunomodulador. En cuanto a los fármacos leishmanicidas, como es el antimonio de meglumine o la miltefosina, son los de primera línea de elección, ya que han demostrado ser efectivos en un 90% de los casos (Ortiz & Rozo, 2016). Como leishmanioestático encontramos el alopurinol, pudiéndose utilizar solo o en combinación con leishmanicidas, aunque el protocolo más frecuente es el uso de antimonio de meglumine asociado con alopurinol, considerándose la terapia más eficaz (Leishvet, 2018). No obstante, es importante tener en cuenta los efectos adversos de estos fármacos. En el caso del antimonio de meglumine, encontramos como principal efecto adverso la potencial nefrotoxicidad y el dolor e inflamación en el punto de inyección, en el caso de la miltefosina, síntomas digestivos como diarreas y vómitos, y en el caso del alopurinol es frecuente encontrarnos xantiuria, mineralización renal y nefrolitiasis (Leishvet, 2018).

Existe, además, un grupo de fármacos que se utilizan en el tratamiento de la leishmaniasis como inmunomoduladores. Estos potencian la respuesta inmune del huésped y evita la progresión de la enfermedad. En este grupo encontramos los nucleótidos o la domperidona (Miró et al., 2017). Según Leishvet, (2018), la domperidona puede ser considerada como monoterapia en estadio I (Segarra et al., 2017; Leishvet, 2018). Por otro lado, el Grupo de Estudio de la Leishmaniosis Canina, formado por Oliva et al., publicó una guía en 2008 en la que mencionan la eficacia parcial de antibióticos como la anfotericina B, la amminosidina, la pentamidina, la enrofloxacina y el metronidazol. Gonçalves et al. (2021), analizaron el aumento de la resistencia de *Leishmania infantum* a miltefosina y anfotericina B, después del tratamiento de un perro con miltefosina y alopurinol, observando un incremento en la resistencia del parásito conforme aumenta el número de cursos de tratamiento. Además, los remedios naturales están probando su eficacia en estos últimos años, como el extracto de *Artemisia annua*, que ha mostrado eficacia en el tratamiento de la leishmaniosis canina ya sea aplicada sola o en combinación con alopurinol (Tejada Rascón & Iniesta Orozco, 2021). Este remedio natural contiene artemisinina, que inhibe el crecimiento del parásito e induce su apoptosis, abriendo una nueva ventana de tratamientos naturales eficaces y sin efectos secundarios (Tejada Rascón, 2016)

La prevención juega un importante papel en el control epidemiológico de la enfermedad. Se ha demostrado que la permetrina es útil contra flebótomos, por ello una de las formas más utilizadas para la prevención de la picadura de este insecto es la aplicación de pipetas o collares con este compuesto. Actualmente, la vacunación supone una medida de prevención de segunda línea. Esto es debido a que las vacunas comerciales que hoy en día están disponibles protegen sólo parcialmente de la infección. En Europa, actualmente hay disponible una vacuna que puede inyectarse solamente a perros seronegativos sanos, de 6 meses de edad o mayores (Leishvet, 2018). Morales-Yuste et al., (2022), confirman en su revisión que la medida más eficaz es la combinación entre el repelente y una vacuna eficaz. Además, es interesante reducir el riesgo de la infección limitando la interacción huésped-vector, mediante la reducción de la exposición con estrategias como evitar zonas húmedas o paseos en las horas de mayor actividad del vector.

3. Objetivos

El objetivo principal de este estudio fue:

1. La caracterización del paciente con leishmaniasis remitido a un centro veterinario de referencia en Valencia.

Los objetivos secundarios fueron los siguientes:

1. Identificar la distribución estacional de la *Leishmania* en Valencia.
2. Caracterizar la demografía de la enfermedad en dicha población.
3. Identificar las técnicas diagnósticas más utilizadas por los veterinarios en el diagnóstico de la leishmaniasis en la zona.
4. Caracterizar las presentaciones clínicas más típicas en el momento del diagnóstico en pacientes remitidos a centros veterinarios de referencia.
5. Analizar los protocolos de tratamientos utilizados actualmente.
6. Identificar la frecuencia de coinfecciones en dicha población.

4. Materiales y métodos

4.1. Resumen del estudio

Se trata de un estudio de cohorte retrospectivo, en el que se utilizan casos de *Leishmania* en perros que acuden al Hospital Veterinario de la Universidad Católica de Valencia, situado en el mediterráneo, entre 2020-2024. Los datos se extrajeron de la base de datos de historias clínicas Qvet, y de la base de datos del laboratorio del propio hospital. Cada caso se considera único, independientemente de la aparición de recidivas.

4.2. Selección de casos y colección de datos

Los registros clínicos de todos los perros que se presentaron en el HV UCV y a los que se les realizó una prueba serológica, PCR, o citología de *Leishmania* desde el 1 de noviembre de 2020 hasta el 31 de mayo de 2024, se recuperaron buscando en la base de datos del laboratorio del HV UCV, las pruebas enviadas al laboratorio IDEXX® y el término “LEISH”. Una vez seleccionados los casos positivos, se buscó la historia clínica de cada caso introduciendo el número de identificación en la base de datos Qvet. El HV UCV ofrece servicio de urgencias las 24 horas del día, todos los días del año. Tiene distintas especialidades como: diagnóstico por imagen, ortopedia y traumatología, cirugía de mínima invasión, cirugía de tejidos blandos, medicina interna, unidad de cuidados intensivos, oftalmología, neurología y neurocirugía, cardiología y sistema respiratorio, anestesia, unidad del dolor y patología clínica. La mayoría de los pacientes llegan referidos a alguna de las especialidades por su centro veterinario habitual, y ofrece un servicio interconsulta que permite que un mismo animal pueda ser atendido por distintos servicios conforme a sus necesidades clínicas. En total, se identificaron 808 serologías de *Leishmania* y 103 PCRs, de estas, se incluyeron todos los casos que cumplían con los criterios de inclusión del estudio y se extrajeron datos relevantes de su registro.

4.3. Criterios de inclusión

Para que los casos fueran incluidos en el estudio, debían de cumplir dos criterios: la prueba serológica debía haber sido realizada a animales de la especie canina de cualquier edad, sexo y raza, y debía ir acompañada de un proteinograma, un hemograma y un análisis bioquímico. Además, los perros seleccionados podían haber acudido a nuestro centro con motivo de urgencia, referidos por su veterinario habitual o con una cita agendada con cualquiera de los servicios del HV UCV para valoración clínica.

4.4. Distribución estacional, demografía y presentaciones clínicas

Para cada caso, se extrajeron la fecha del diagnóstico, la raza, el sexo, el resultado de las pruebas (serológicas, PCR, citologías), ratio A/G, el proteinograma (PTG), el estadio de la enfermedad, los síntomas que presentaban en el momento de la consulta, la presencia de anemia, trombocitopenia, leucograma alterado, azotemia, proteinuria, el tratamiento antileishmania pautado, la existencia de coinfecciones y los tratamientos de otras patologías. Se registró el estadio del paciente para reflejar la gravedad de la enfermedad y los signos clínicos, utilizando un sistema de estadificación predefinido (Tabla 1).

ESTADIO DEFINICIÓN

A	Expuesto: presentan títulos de anticuerpos específicos, sin ser 4 veces superiores al valor umbral del laboratorio de referencia, pero las pruebas diagnósticas son negativas y no presentan alteraciones clínico-patológicas.
B	Infectado: se puede diagnosticar el parásito, pero no presenta alteraciones clínico-patológicas.
C	Enfermo: presentan alteraciones clínico-patológicas atribuibles a leishmaniosis y se demuestran anticuerpos superiores a 4 veces el valor umbral del laboratorio de referencia.
D	Enfermo con cuadro clínico grave: con cuadro clínico grave, que presentan nefropatía proteinúrica, insuficiencia renal crónica, enfermedades oculares graves que pueden provocar pérdida funcional y/o requerir terapias inmunodepresoras, enfermedades articulares graves que pueden invalidar la función motora y/o requerir terapias inmunodepresoras, enfermedades concomitantes graves, de naturaleza infecciosa, parasitaria, neoplásica, endocrina o dismetabólica.
E	Refractario (Ea): refractario al tratamiento. Recidivo (Eb): animal sometido a tratamiento, con recidiva precoz.

Tabla 1. Criterios de estadiaje en perros afectados por *Leishmania* basado en la clasificación establecida por Oliva et al., (2008).

Las razas se agruparon en mestizo (cruce de razas) o pura raza (donde se incluían distintas razas puras). Las razas puras que se registraron fueron American Bully, American Staffordshire, American Pitbull Terrier, Basset Hound, Beagle, Border Collie, Bulldog Francés, Cane Corso, Caniche, Chihuahua, Pastores (Alemán, Mallorquín, Catalán), Labrador Retriever, Podenco, Pomerania, Weimaraner, West Highland Terrier y Yorkshire Terrier.

Los síntomas presentados, se recogieron por el veterinario que realizó la anamnesis durante la primera consulta y se agruparon en 7 grupos por tipo de presentación: 1- Linfadenomegalia, 2- digestiva, 3- cutánea, 4- musculoesquelética, 5- oftalmológica, 6- neurológica, y 7- renal. Además, también se analizaron los casos en los que existían coinfecciones.

4.5. Tratamiento y complicaciones

Tratamiento

Los casos fueron divididos en 2 grupos: (a) perros no tratados porque su estadio no requería tratamiento o porque sus propietarios declinaron; (b) perros tratados. Los perros tratados, a su vez, se dividieron en 4 subgrupos: (1) tratados solamente con leishmanioestáticos o sólo con inmunomoduladores; (2) perros tratados solamente con leishmanicida; (3) perros tratados con leishmanicidas y leishmanioestáticos o leishmanicidas e inmunomoduladores; (4) perros tratados con leishmanicidas, leishmanioestáticos e inmunomoduladores.

Se extrajeron detalles del tratamiento, incluyendo requerimientos de estabilización y hospitalización en caso de que fuera necesaria, detalles de los leishmanicidas, leishmanioestáticos e inmunomoduladores utilizados, incluyendo la vía de administración, y los detalles del tratamiento antes de la derivación al HV UCV. También se identificó si los casos presentaban coinfecciones u otras patologías y los tratamientos de soporte que estas requerían, dividiéndose en 3 grupos: (a) antibióticos, (b) glucocorticoides, (c) dietas específicas / suplementos dietéticos y (d) otros fármacos.

Protocolo de tratamiento

Los veterinarios tratantes, decidían las opciones de tratamiento más adecuadas basándose en el estadio y clínica de cada caso.

El protocolo de tratamiento para los casos que se presentaban en el hospital era el siguiente:

1. Estabilización: en caso de llegar como urgencia y estar clínicamente inestable.
2. Anamnesis y examen físico: realizado en el momento de la consulta, prestando especial atención a la identificación de linfadenomegalia, sarcopenia, lesiones dermatológicas, y alteraciones de la marcha.
3. Realización de pruebas: hemograma, bioquímica, proteinograma, serología, PCR, citología, ratio proteína/creatinina en orina (UPC), test rápido.
4. Hospitalización: si era requerida, con los tratamientos necesarios para estabilizar al paciente, a la espera de los resultados de las pruebas serológicas, citologías o PCR.

5. Tratamiento antileishmania: los veterinarios tratantes decidían que protocolo antileishmania aplicar dependiendo de la clínica y el estadiaje del animal según Oliva et al., (2008)
6. Reacción adversa fármacos antileishmania: si se observaba cualquier reacción adversa, se reevaluaba la pauta establecida, modificando en caso de ser necesario el fármaco y la dosis que administrar, o añadiendo otros fármacos que disminuyeran estos efectos adversos.
7. Cuidados de enfermería: todos los casos que requirieron hospitalización recibieron cuidados de enfermería, como fluidoterapia, curas de lesiones dermatológicas, exploraciones físicas cada 2-4 horas con toma de constantes vitales, cambios de decúbito, cuidado de ojos, paseos y nutrición.
8. Alta hospitalaria: los casos que respondieron a tratamiento y se estabilizaron clínicamente fueron dados de alta con tratamiento y revisión a los 3, 6, o 12 meses, dependiendo del título de anticuerpos presentados en la serología. Los casos de alta voluntaria, en contra del consejo veterinario, firmaban un papel de alta voluntaria. Otros casos preferían continuar con el tratamiento en su clínica veterinaria habitual. Los casos que no mejoraban clínicamente y tenían un pronóstico reservado-malo se proponían para eutanasia humanitaria.

Complicaciones

Las complicaciones, como el empeoramiento clínico y analítico del animal o la aparición de efectos adversos fueron registradas. Debido al diseño retrospectivo de este estudio, la clasificación exacta de todas las reacciones no fue posible, registrándose sobre todo las complicaciones renales como xantiuria y fallo renal.

4.6. Análisis estadístico

Para el estudio estadístico de los datos se empleó el programa informático R versión 4.3.2 software (R development Core Team; Vienna, Austria). En primer lugar, se evaluó la distribución de los datos efectuando la prueba de normalidad Shapiro-Wilk.

En este estudio se categorizaron las variables como 0 o 1. La independencia entre las variables fue analizada mediante la prueba Chi-cuadrado (χ^2). Se compararon las variables diagnóstico con resultado de AC, estadio de *Leishmania* con alteraciones analíticas, tratamiento antileishmania y coinfecciones, y resultados de AC con alteraciones analíticas, tratamiento antileishmania y coinfecciones mediante Chi-cuadrado. En alteraciones analíticas se analizaron: ratio A/G, proteinograma, anemia, trombocitopenia, leucograma, azotemia y proteinuria. Para valorar el grado de interrelación de la serología con las alteraciones analíticas, el tratamiento antileishmania y las

Caracterización de leishmaniasis canina en un hospital de referencia veterinario: estudio retrospectivo.

coinfecciones, se realizó la prueba no paramétrica de Spearman ($p < 0.05$). Las gráficas se crearon utilizando Matplotlib, una biblioteca de visualización de datos en Python y con el programa Microsoft® y Excel® para Microsoft 365 MSO (Versión 2404 compilación 16.0.17531.20152).

5. Resultados

5.1. Número de casos

Se identificaron un total de 911 pruebas (ELISA y PCR) realizadas utilizando la estrategia de búsqueda. De estas, 85 cumplían los criterios de inclusión: especie canina, resultado positivo, y presentación de proteinograma, hemograma y bioquímica. 41 fueron los casos en los que se diagnosticó la leishmaniasis por primera vez en el HV UCV.

5.2. Distribución estacional

Se realizaron diagnósticos de leishmaniasis durante todo el año. No obstante, la incidencia aumentó en primavera (mayo y junio) y otoño (noviembre). La mayoría de los casos se diagnosticaron a mediados y finales de la primavera ($n = 9$ [21,95%]) y en otoño ($n = 11$ [26,82%]), con dos picos en invierno ($n = 8$ [19,51%]) y otro en verano ($n = 5$ [12,19%]) (Figura 2). El año con mayor número de diagnósticos fue 2023 ($n = 14$ [35,14%]), mostrando una tendencia ascendente de los casos diagnosticados desde 2020 (Figura 3).

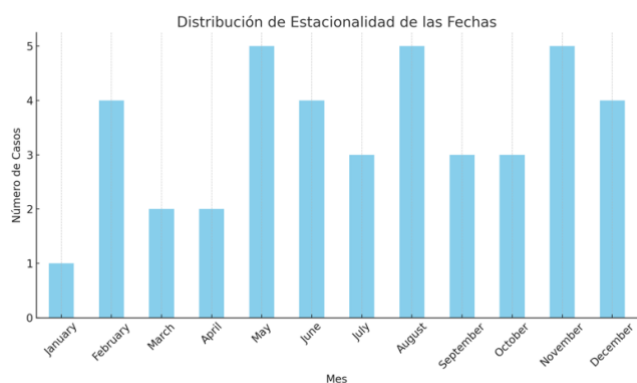


Figura 2. Distribución estacional del número de casos diagnosticados por mes. Número total de casos = 41.

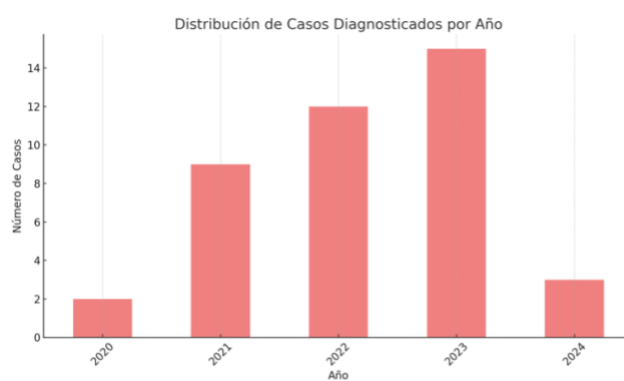


Figura 3. Distribución estacional del número de casos diagnosticados por año. Número total de casos = 41.

5.3. Demografía

Las hembras constituían la mayoría de los casos ($n = 24$ [58,53%]), mientras que los machos representaban un 41,46% ($n = 17$) (Tabla 2). No se registró el estado de fertilidad. Los perros mestizos fueron el grupo más común ($n = 15$ [36,58%]), seguido del Labrador Retriever ($n = 3$ [7,3%]), el resto de las razas constituyen menos del 5% cada una (Tabla 3).

Las edades, el índice corporal o la ubicación de la vivienda habitual no se tomaron en cuenta en este estudio.

SEXO	N.º de casos
HEMBRA	24
MACHO	17
Total general	41

Tabla 2. Recuento de número de casos agrupados por sexo.

RAZA	N.º de casos
MESTIZO	15
LABRADOR RETRIEVER	3
WEIMARANER	2
AMERICAN STAFFORDSHIRE	2
PASTOR ALEMAN	2
BORDER COLLIE	2
POMERANIA	2
PASTOR MALLORQUIN	1
BULLDOG FRANCES	1
AMERICAN PITBULL TERRIER	1
BASSET HOUND	1
PASTOR CATALAN	1
YORK SHIRE TERRIER	1
PODENCO	1
BEAGLE	1
CANE CORSO	1
WETHIGHLAND WT	1
CANICHE GIGANTE	1
AMERICAN BULLY	1
CHIHUAHUA	1
Total general	41

Tabla 3. Recuento de número de casos agrupados por raza.

5.4. Técnicas diagnósticas y serológicas

En la mayoría de los casos (n = 21 [51,21%]) se utilizaron técnicas diagnósticas combinadas en el momento de la primera consulta, en 19 de los casos (46,34%) se utilizó únicamente la técnica ELISA, y en 1 caso (2,43%) se utilizó exclusivamente PCR. Las técnicas combinadas fueron en su mayoría ELISA y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (n = 17 [41,46%]), pero también se utilizaron citologías (n = 4 [9,75%]) (Tabla 4).

DX	N.º de casos.
ELISA	19
ELISA + IFI	17
ELISA + citología	1
ELISA + IFI + citología	2
PCR	1
PCR + citología	1
Total general	41

Tabla 4. Recuento de número de casos agrupados según técnicas diagnósticas utilizadas.

En cuanto a los resultados de las pruebas realizadas, se obtuvo un 9,75% (n = 4) de seropositivos débiles, un 17,07% (n = 7) de seropositivos bajos, un 9,75% (n = 4) de seropositivos, un 9,75% (n = 4) de seropositivos altos y un 48,78% (n = 30) de seropositivos muy altos, constituyendo el grupo mayoritario (Figura 4). Por otro lado, las 2 PCR incluidas en este estudio tuvieron un resultado de parasitemia alta. Con el test Chi-cuadrado, se demostró una correlación estadística entre la prueba realizada para el diagnóstico y el resultado obtenido (p-valor = 0.001994).

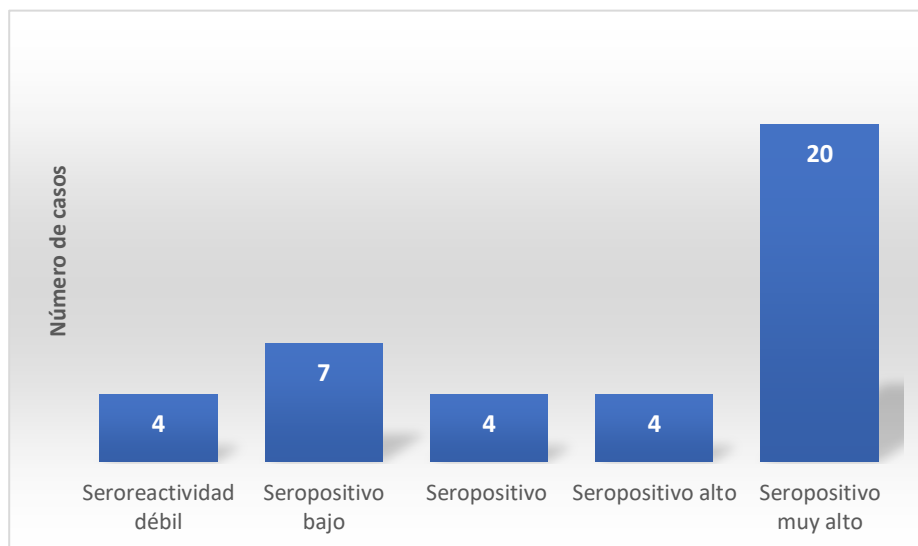


Figura 4. Recuento de número de casos agrupados según el grado de seropositividad en la prueba ELISA.

5.5. Presentación clínica

Alteraciones analíticas

El proteinograma fue uno de los parámetros estudiados, registrando si estaba alterado o no. Por un lado, se analizó el ratio A/G, donde se vio que la mayoría de los ratios no estaban alterados (n = 22 [53,65%]). Por otro lado, se analizó el perfil de proteínas, es decir, si existía un aumento o descenso de albúmina y globulinas, donde la mayoría se presentó alterado (n = 25 [60,9%]).

Otro de los parámetros analizados fueron los hemogramas hechos en el momento del ingreso o consulta. En estos hemogramas, se analizaron la presencia de anemia, trombocitopenia y el leucograma, registrando si estaba alterado o no. La mayoría de los casos no presentó anemia (n = 23 [56,09%]), mientras que 18 casos (43,9%) sí que la presentaron. La trombocitopenia estuvo presente en solo un 29,26% (n = 12), mientras que un 70,73% (n = 29) no la presentó. En cuanto al leucograma, la mayoría lo mostraba alterado (n = 24 [58,53%]).

También se llevó a cabo un análisis de las bioquímicas, analizando la presencia de azotemia, donde se vio que estaba presente en un 21,95% de los casos (n = 9). Por otro lado, mediante el UPC y orina se registró la presencia de proteinuria, estando presente en un 36,58 % de los casos (n = 15).

Se analizó la dependencia de variables entre los resultados de anticuerpos con las alteraciones analíticas, donde se encontró significancia estadística entre: los resultados de AC y la alteración del ratio A/G (p-valor = 0.02541); los resultados de AC y la alteración del PTG (p-valor = 0.003092); los resultados de AC y la presencia de anemia (p-valor = 0.04225). No hubo significancia estadística entre los resultado de AC y la presencia de trombocitopenia (p-valor = 0.4313), así como tampoco la hubo entre el resultado de AC y la alteración del leucograma (p-valor = 0.4907), la presencia de azotemia (p-valor = 0.5831) y la aparición de proteinuria (p-valor = 0.134).

Utilizando el test de Spearman, se demostró una correlación estadísticamente significativa entre el resultado de los anticuerpos (AC) y la presencia de anemia en el hemograma (p-valor = 0.004279) (Figura 5), así como entre el resultado de los AC y el tratamiento antileishmania utilizado (p-valor = 0.00228) (Figura 6) y entre el resultado de los AC y el estadio de la enfermedad (p-valor = 0.0000227) (Figura 7). Por el contrario, no se encontró una correlación estadística significativa entre los resultados de los AC y los siguientes parámetros analíticos: alteración del ratio A/G (p-valor = 0.088), alteración del PTG (p-valor = 0.7579), presencia de trombocitopenia (p-valor = 0.07549), alteración del leucograma (p-valor = 0.944), presencia de azotemia (p-valor = 0.4765) y presencia de proteinuria (p-valor = 0.1128). Tampoco se encontró correlación entre los resultados de los AC y la presencia de una coinfección (p-valor = 0.261).



Figura 5. Relación entre el título de AC con la aparición de anemia en el hemograma.

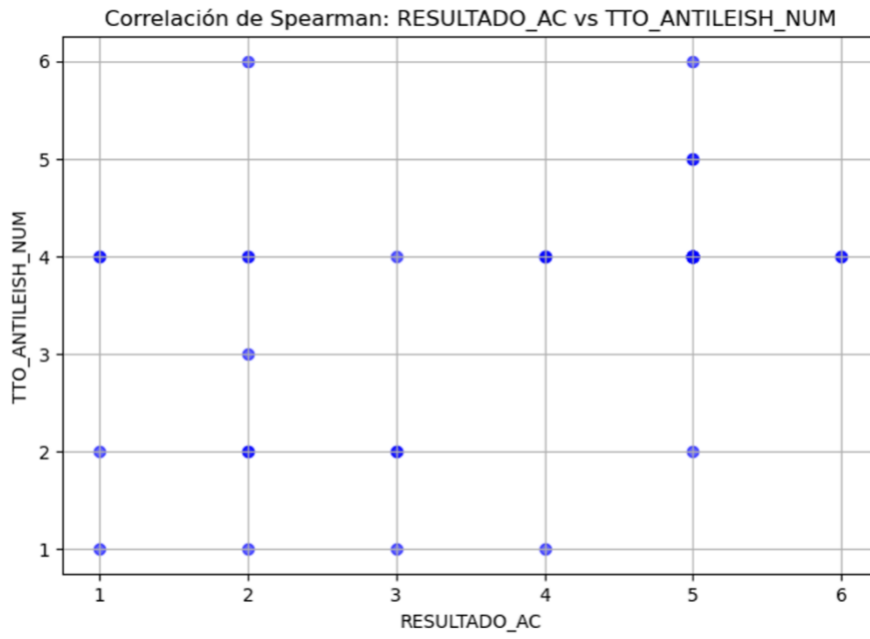


Figura 6. Relación resultados AC con el tipo de tratamiento antileishmania aplicado.

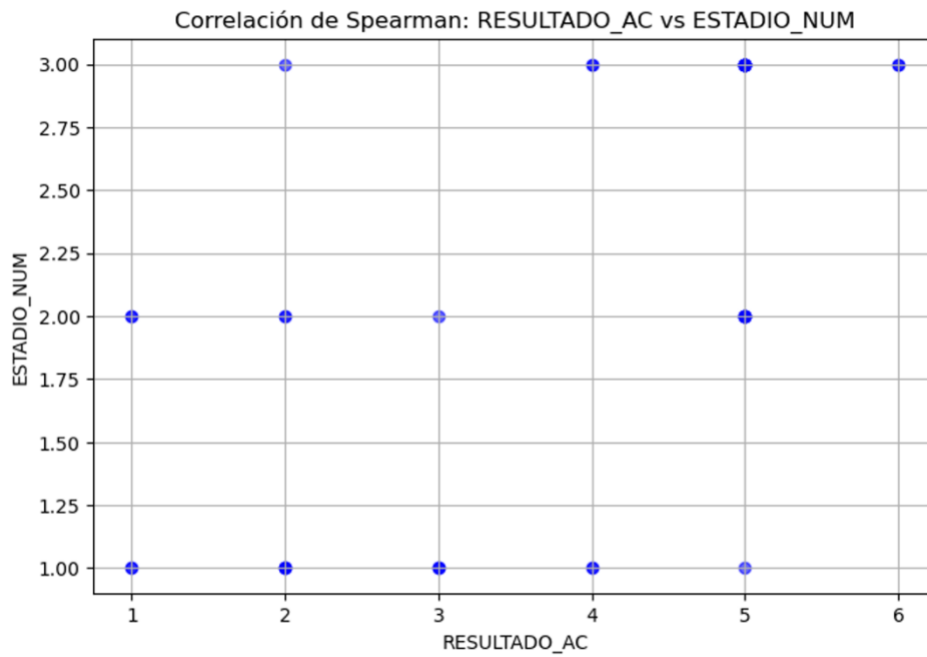


Figura 7. Relación del resultado AC con el estadio de la enfermedad.

Síntomas y estadiaje

En cuanto a los síntomas, 23 casos (56,09%) presentaron síntomas digestivos (anorexia, VD, melena, dolor abdominal), en 15 casos (36,58%) las lesiones fueron cutáneas (descamación, prurito, nódulos, alopecia, úlceras, pododermatitis, hiperqueratosis, etc.), otros 15 casos sufrían problemas articulares (cojera, artritis séptica, poliartritis), 11 casos (26,82%) presentaron linfadenomegalia, 10 casos (24,39%) manifestaron síntomas neurológicos (parálisis facial, discoespondilitis, head tilt, síndrome vestibular, tetraparesia), 8 casos (19,51%) mostraron síntomas oftalmológicos (uveítis, queratoconjuntivitis, úlceras corneales, exoftalmia), y 4 casos (9,71%) evidenciaron síntomas del tracto urinario (enfermedad renal aguda (AKI), poliuria-polidipsia) (Figura 8).

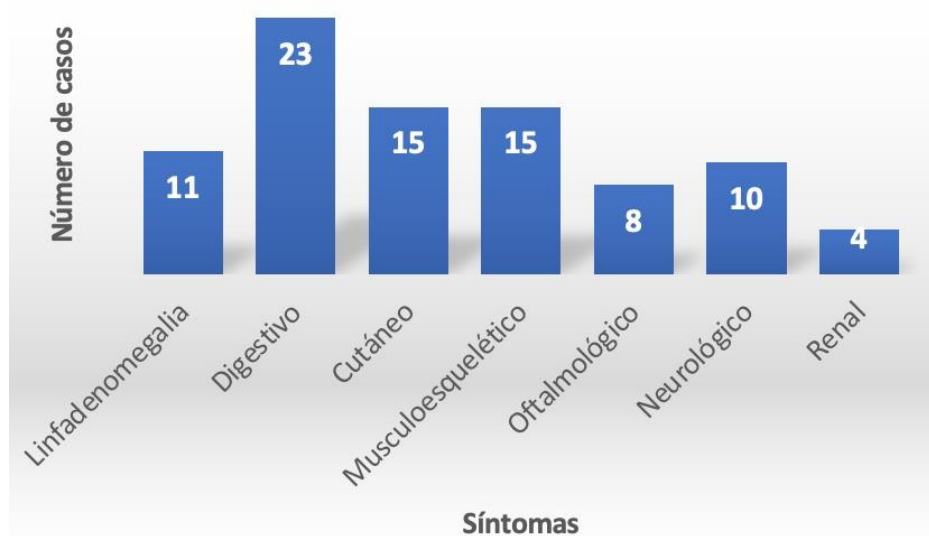


Figura 8. Recuento de número de casos agrupados por tipo de sintomatología presentada en el momento de la primera consulta en el HV UCV. Total de casos = 41.

La mayoría de los casos presentados ($n = 17$ [41,46%]) corresponden al estadio D, seguidos de los estadios B y C, que representan el mismo número de casos cada uno ($n = 12$ [29,26%]). El estadio A no tuvo representación en este estudio (Figura 9). Se encontró una relación estadísticamente significativa entre el estadio de la enfermedad y los resultados de los anticuerpos (p -valor = 0.02082), así como con la alteración del ratio A/G (p -valor = 0.0004729) y el proteinograma (p -valor = 0.056). También se observó una relación estadística con la presencia de anemia en el hemograma (p -valor = 0.00176), la azotemia (p -valor = 0.043) y la proteinuria (p -valor = 0.000658). En cambio, no se pudo demostrar una relación significativa entre el estadio y la aparición de trombocitopenia (p -valor = 0.108) ni con la alteración del leucograma (p -valor = 0.134).

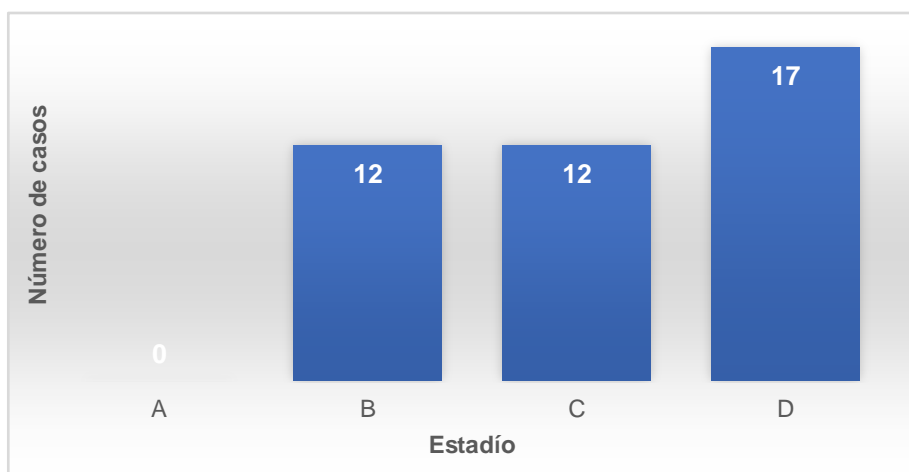


Figura 9. Recuento del número de casos agrupados por estadio de la enfermedad. Total de casos= 41.

5.6. Tratamiento y coinfecciones

Tratamiento

A la mayoría de los casos ($n = 26$ [63,41%]), el protocolo que se les aplicó fue el 3, es decir, la combinación de leishmanicida + leishmanioestático, seguido de aquellos a los que solo se les aplicó el protocolo 1 (leishmanioestático o inmunomodulador) ($n = 6$ [14,63%]). Solamente a 1 caso se le aplicó leishmanicida como tratamiento único (protocolo 2), a un grupo minoritario ($n = 2$ [5%]) se le aplicó el protocolo 4, a 4 casos (9,75%) no se les aplicó tratamiento, y de 2 casos no se pudo recoger datos debido a que siguieron el control en su veterinario habitual (Figura 10).

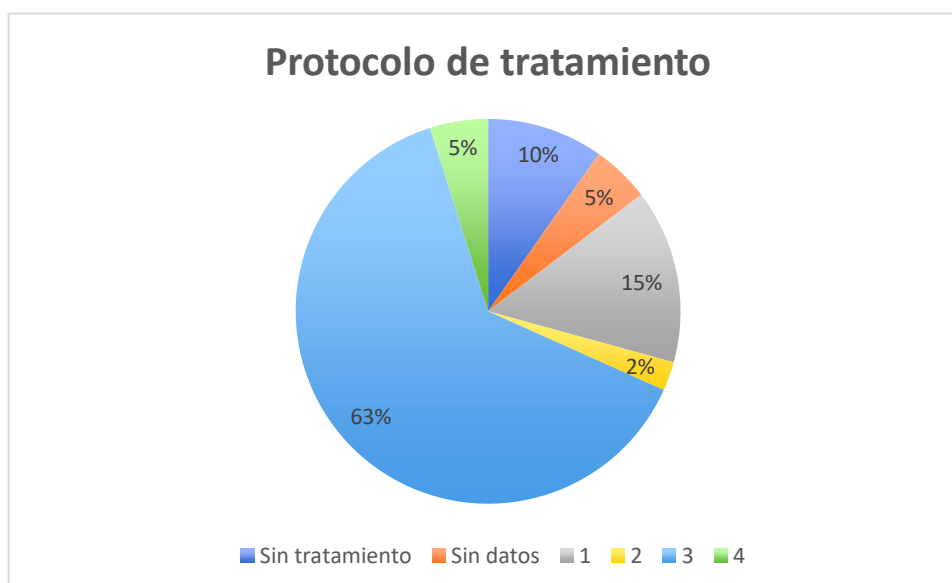


Figura 10. Casos agrupados según protocolo de tratamiento aplicado, siendo 1 = solo leishmanioestático o inmunomodulador; 2 = sólo leishmanicida; 3 = leishmanicida y leishmanioestático o inmunomodulador; 4 = leishmanicida, leishmanioestático e inmunomodulador.

También se registró el tipo de fármaco específico empleado para tratar la *Leishmania* (leishmanicida o leishmanioestático), siendo el alopurinol el tratamiento más utilizado (n = 32 [78,04%]), ya sea solo o en combinación. El segundo fármaco más común fue el antimonio de meglumine (AM) (n = 28 [68,29%]), seguido de los nucleótidos (n = 4 [9,75%]), y el menos utilizado fue la miltefosina (n = 2 [4,87%]).

La forma más común de administrar estos fármacos fue la combinación de AM con alopurinol (66%), seguida del uso de alopurinol como tratamiento único (14%). En menor proporción, se utilizaron combinaciones como miltefosina con alopurinol (6%), AM con alopurinol y nucleótidos (6%), y AM con nucleótidos (3%). La aplicación de nucleótidos o AM como tratamientos únicos tuvo poca representación (3%) (Figura 11). Se encontró una relación estadísticamente significativa entre el estadio de la enfermedad y el tratamiento antileishmania aplicado (p-valor = 0.0008264).

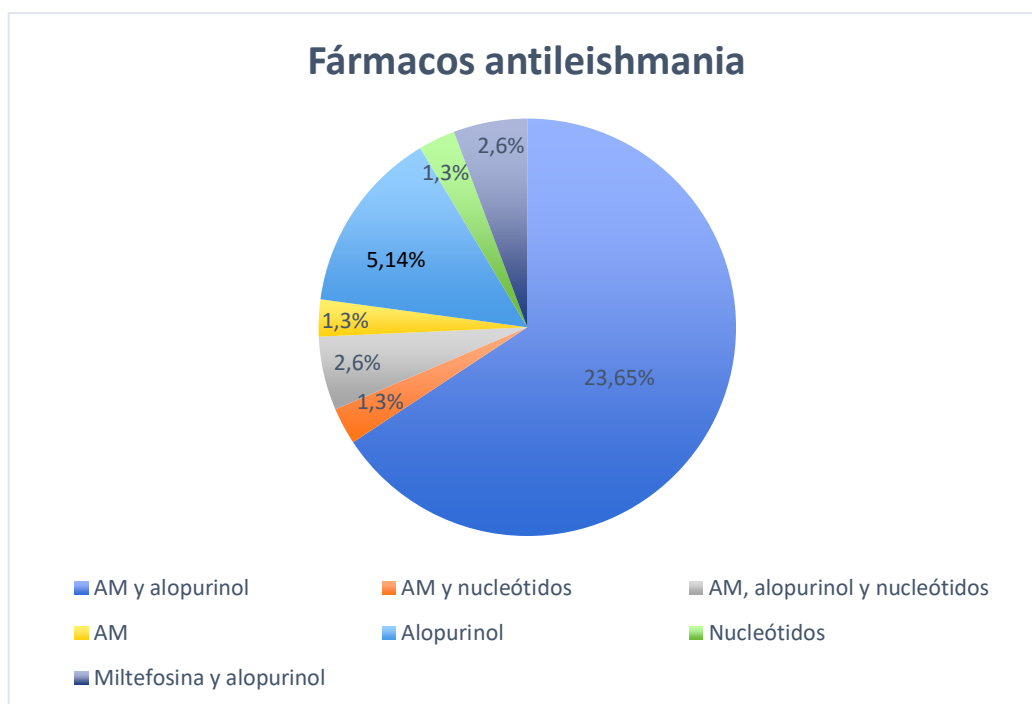


Figura 11. Porcentaje de fármacos utilizados en el momento del diagnóstico de *Leishmania* en el HV UCV.

Por otro lado, se aplicaron distintos tratamientos sintomáticos y de soporte, agrupados en 3 grandes grupos: a) antibióticos (n = 20 [48,78%]); b) glucocorticoides (n = 18[43,90%]); c) dietas específicas/suplementos dietéticos (n = 14 [34,14%]) y d) otros. En el grupo D), los fármacos más utilizados fueron el maropitant (n = 8 [19,51%]), clopidogrel (n = 7 [17,07%]), omeprazol (n = 6 [14,63%]), ácido ursodesoxicólico (n = 5[12,19%]), gabapentina (n = 4[9,75%]), amlodipino (n = 4 [9,75%]), y paracetamol (n = 4 [9,75%]) (Figura 12).

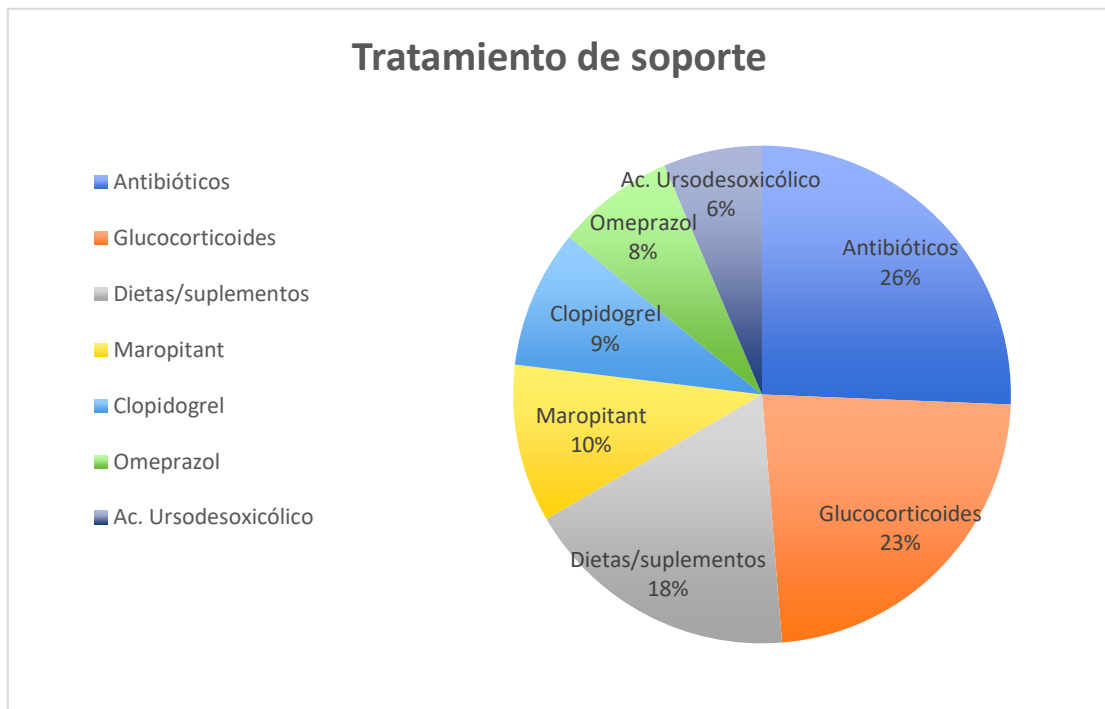


Figura 12. Representación de los diferentes fármacos utilizados como tratamiento de soporte extra.

Coinfecciones

Se identificaron 18 casos con alguna coinfección (43.9%), mientras que 23 casos (56.09%) no presentaron coinfecciones. Del total de casos, el 80.48% (n = 33) recibió tratamiento para otras coinfecciones o patologías coexistentes (Tabla 5). No se encontró una relación estadísticamente significativa entre el estadio de la enfermedad y la presencia de coinfección (p-valor = 0.269).

COINFECCIÓN	TRATAMIENTO	N.º de casos
<i>Cocos-bacilos</i>	Amoxi-clav	2
<i>Ehrlichia</i>	Doxiciclina	3
<i>Shigella</i>	Enrofloxacino	1
<i>E. coli</i>	Enrofloxacino	1
<i>Hepatozoon</i>	Imidocarb	1
<i>Anaplasma</i>	Doxiciclina	3
<i>Rickettsia</i>	Doxiciclina	2
<i>E. coli</i>	Amoxi-clav	1
ND	Marbofloxacino	2
<i>Toxoplasma</i>	Clindamicina	1
ND	Amoxi-clav	1

Tabla 5. Recuento de número de casos agrupados por agente infeccioso que causa la coinfección y tratamiento pautado. ND= no hay datos, en los casos en los que se sospechaba de coinfección, pero no se llegaba al agente etiológico.

6. Discusión

La caracterización del paciente de *Leishmania* es complicada debido a que las poblaciones de estudio difieren entre sí, no obstante, en este estudio se pretende poner en común algunos datos y parámetros importantes para poder llegar a esa caracterización que permita un abordaje más completo de la enfermedad, sobre todo en centros veterinarios de referencia o segunda opinión.

6.1. Distribución estacional

La distribución estacional de la enfermedad puede tener implicaciones importantes en términos de prevención y control. Al ser una enfermedad transmitida por un flebótomo, es importante tener en cuenta las épocas de mayor actividad de este, coincidiendo con primavera y otoño (Paltrinieri et al., 2016). En nuestro estudio se observó un mayor número de diagnósticos durante estos meses, no obstante, también se observan picos durante el invierno, que puede deberse a la demora en la presentación de síntomas clínicos desde que el flebótomo infecta al animal (Foglia Manzillo et al., 2013)

Es de gran importancia conocer el comportamiento del vector para poder establecer medidas preventivas y campañas de diagnóstico. Miró (2007) resalta la importancia del control intradomiciliario del flebótomo, ya que, tanto en este como en otros estudios, se ha demostrado el aumento de casos según el aumento de la actividad del mismo, por lo que es necesario aplicar medidas protectoras como mallas en ventanas, puertas y perreras o cortinas y mosquiteras tratadas con piretroides sintéticos residuales.

Este estudio también ha demostrado el incremento del número de diagnósticos realizados en los últimos años en el HV UCV, esto puede deberse al incremento de la incidencia de la enfermedad en Europa (Attipa et al., 2018) o a la mejora de las técnicas diagnósticas del centro que está permitiendo realizar más diagnósticos.

6.2. Demografía

Por otro lado, en este estudio parece haber una ligera predisposición de las hembras a contraer la enfermedad, aunque es muy poca la diferencia entre sexos y prácticamente son el 50% (solo 7 casos menos son machos). Esto puede ser debido al predominio de las hembras en el número de muestras. En otros países del mundo como Uruguay, Grecia o Países Bajos, se observó un mayor número de seropositivos machos (Scayola et al., 2019). En el estudio de Miranda et al., (2008), también reportan

una mayor predisposición de machos en contraer la enfermedad, y algunos autores como Ciaramella et al., (1997) informan que más machos que hembras parecen sufrir la enfermedad. Otros estudios sostienen la hipótesis de que no existen diferencias significativas en la distribución de la leishmaniasis por sexos (Koutinas et al., 1999). No obstante, es difícil comparar nuestros resultados con la literatura ya que las poblaciones de los estudios publicados no se comparan con la nuestra.

Respecto a la relación entre la infección por *Leishmania* y las razas caninas, en este estudio no se encontró una asociación significativa entre la raza y la predisposición a desarrollar la enfermedad, pero esto puede deberse al bajo número de casos por raza analizados. No obstante, los grupos más representados fueron los perros mestizos y el Labrador Retriever. En el caso del Labrador Retriever, algunos reportes posicionan a esta raza como una de las más prevalentes en infectarse (Rondon et al., 2008), Ciaramella et al., (1997), también encontraron en su estudio un mayor número de perros mestizos infectados, aunque, es probable, que esto se deba a la mayor presencia de estos grupos en el país. Miranda et al., (2008), encontraron las razas Yorkshire Terrier y Caniche como razas subrepresentadas en términos de desarrollar la leishmaniasis, de igual forma que en este estudio donde también representan razas con poca representación. El Boxer, en cambio, es una raza que según varios autores parece tener predisposición (Miranda et al., 2008; Rondon et al., 2008; Perego et al., 2014), pero, por el contrario, en nuestro estudio no se encontró ningún caso de esta raza. Otros estudios sugieren que no existe ninguna relación entre la presencia de una raza pura y la presentación de la enfermedad, de hecho, es interesante conocer que algunos de los estudios que confirman la predisposición racial, tenían como población animales provenientes de criaderos y tiendas de mascotas, por lo que las razas puras estarían sobrerrepresentadas (Scayola et al., 2019).

La mayoría de las razas de perros representadas en este estudio fueron de talla grande. En este estudio no se recogió información sobre el estilo de vida de los perros infectados, pero sería interesante analizarlo ya que puede ser un factor predisponente a la infección. Los perros de talla grande suelen pasar una mayor parte de su tiempo al aire libre e incluso vivir en jardines y campo. De esta forma, estarían expuestos continuamente a la picadura del flebótomo, siendo vulnerables durante las horas de mayor actividad del mismo. Ciaramella et al., (1997) sugieren que, por este motivo, los perros que viven en interior están menos expuestos a la picadura y por tanto a la infección.

6.3. Técnica diagnóstica

La mayoría de los casos se diagnosticaron con la prueba ELISA, además, la estadística ha demostrado la asociación entre el tipo de técnica utilizada y los resultados obtenidos. Según Paltrinieri

et al., (2016), la prueba de inmunocromatografía (ICT) es la más utilizada en la práctica clínica. El ICT tiene el inconveniente de ser una prueba cualitativa, que indica la presencia o ausencia del parásito, pero no la cantidad, además de ser poco sensible y depender del estadio de la enfermedad. Según varios autores, IFAT es la prueba de referencia gracias a su alta sensibilidad y especificidad (Solano-Gallego et al., 2014) pero ELISA es también muy sensible y específica además de que sus resultados son más fáciles de estandarizar, considerándose un título alto si este es 4 veces mayor que el umbral del laboratorio (Paltrinieri et al., 2010). La PCR se realiza en casos donde hay sospecha de infección sistémica y de diseminación en sangre periférica o médula ósea. Por esta razón, en nuestra población, la PCR se realizó en solo 2 casos como prueba de elección (Paltrinieri et al., 2016). En nuestro estudio, la mayoría de la población se encontraba en estadio D y presentaba síntomas clínicos avanzados, lo que coincide con los resultados de las PCR, que mostraban una parasitemia alta, y con las serologías, que también mostraron títulos de anticuerpos muy altos en la mayoría de los casos. Estos resultados son congruentes con los de otros autores, como Proverbio et al., (2014), quienes informan sobre la relación entre el nivel de anticuerpos y parasitemia con el estadio y la sintomatología que presenta el paciente.

6.4. Presentaciones clínicas

Estadio

La mayoría de los ejemplares incluidos en este estudio, se clasificaron con un estadio D y con una seropositividad muy alta, coincidiendo con la clínica presentada, ya que la mayoría eran poli e hipersintomáticos. Estos resultados pueden deberse a que la población estudiada, se encuentra en un hospital de referencia, donde los pacientes llegan en estadios avanzados o refractarios al tratamiento.

En este estudio se ha demostrado la correlación significativa entre el estadio que presenta el animal y el título de anticuerpos que tiene, coincidiendo con otros estudios como el de Proverbio et al., (2014), no obstante es importante tener en cuenta que el diagnóstico de la enfermedad real se hace tanto con los hallazgos clínicos como con los serológicos. Paltrinieri et al., (2016), confirmaron que aquellos casos donde los títulos de anticuerpos son altos o muy altos la enfermedad será evidente, aunque se pueden detectar títulos bajos a perros con síntomas, clasificándose como B o C.

Normalmente los perros son diagnosticados en sus clínicas habituales por la aparición de síntomas leves o como hallazgo incidental en campañas de control y prevención en zonas hiperendémicas, ya que en los primeros meses post-infección es probable que no hayan seroconvertido o que tenga títulos bajos (Paltrinieri et al., 2016; Foglia Manzillo et al., 2013). En este

estudio la población cambia, la mayoría de los casos se presentan en estadio D debido a que es un centro de referencia, al que llegan pacientes normalmente con la leishmaniasis ya diagnosticada pero descontrolada, refractaria a tratamiento, o se diagnostica por primera vez ante síntomas graves o poco habituales.

Síntomas clínicos

En cuanto a la presentación clínica, en este estudio todos los casos presentaban síntomas, un 29% de los casos eran oligosintomáticos y con serorreactividad débil, pero ninguno era totalmente asintomático. Estos datos difieren con el estudio de Solano Gallego et al., (2001), en el que confirman que en España un 58% de animales infectados eran asintomáticos. Esto puede deberse a que, como se ha mencionado anteriormente, los casos que se incluyeron en este estudio se presentaron en el HV UCV con motivo de urgencias, referidos por su veterinario o como visita para segunda opinión y todas estas situaciones conllevan una sintomatología clínica. Manzillo et al. describen en su estudio de 2013, que todas las infecciones activas asintomáticas acaban progresando a una enfermedad completa, observando la aparición de los síntomas leves a partir del año de infección y otros síntomas como los oculares o renales aparecieron de forma más tardía. Este estudio demostró un patrón común de la infección que nos indica que al HV UCV llegan pacientes crónicos que tienen la infección desde hace mínimo un año.

Por otro lado, la presentación clínica más frecuente encontrada en este estudio fueron los síntomas digestivos, seguidos de los síntomas cutáneos y los problemas musculoesqueléticos. Coincidiendo con Lopes Macau et al., (2017) la forma cutánea es de las formas más frecuentes de aparición de la enfermedad, no obstante, son varios los autores que reportan los síntomas digestivos como síntomas poco frecuentes (Amusatogui et al., 2003; Scayola et al., 2019). Ciaramella et al., (1997) identifican la onicogriposis e hiperqueratosis como algunos de los signos cutáneos más habituales, no obstante, en este estudio no se presentó ningún caso con onicogriposis, y solo uno de los casos se presentó con hiperqueratosis nasal, de acuerdo con otros estudios más recientes que también reportaron un bajo porcentaje de casos con esta sintomatología (Perego et al., 2014). La linfadenopatía es uno de los síntomas más reportados por diversos autores (Amusatogui et al., 2003), en este estudio estuvo presente en un 24% de los casos, siendo uno de los síntomas más frecuentes, ya fuera generalizada o localizada, representando un porcentaje cercano al 20% de Slappendel (1988).

Se han reportado casos con síntomas cardiovasculares, aunque este tipo de presentación es extremadamente rara y ocasional (Blavier et al., 2001). A pesar de que los casos atendidos en el HV UCV han demostrado ser complicados, ninguno de los incluidos en el estudio tuvo síntomas

cardiovasculares. No obstante, es importante recordar que están descritos algunos procesos como pericarditis fibrosa difusa, granulomas en ventrículos cardiacos, vasculitis necrotizante sistémica o tromboembolismo (Blavier et al., 2001).

Por otro lado, Blavier et al., (2001) también estudiaron la alteración de la hemostasia en perros infectados por *Leishmania sp.* En este estudio se concluyó que, si bien es cierto que existen casos reportados de hemorragias como síntoma frecuente de leishmaniasis, estas suelen ir asociadas a las lesiones inflamatorias y ulcerativas de la mucosa y a la hipergammaglobulinemia, en vez de a trastornos de la hemostasia. Además, teniendo en cuenta que el hígado es uno de los órganos diana de este parásito (Serafim et al., 2020) es probable que los tiempos de coagulación se vean alterados debido al daño hepático. (Blavier et al., 2001). Scayola et al., 2024, también relacionan la trombocitopenia como respuesta a la vasculitis o a la destrucción de plaquetas por insuficiencia renal y al daño hepático, aunque según su estudio el hígado no suele presentar lesiones severas por *Leishmania infantum*.

Alteraciones analíticas

En relación a los parámetros bioquímicos y hematológicos, dado que su alteración está estrechamente relacionada con el estadio de la enfermedad, era previsible encontrar niveles significativamente afectados, especialmente considerando que la mayoría de los casos se encontraban en el estadio D. El proteinograma mostró una disproteinemia en la mayoría de los casos, como era de esperar. Sin embargo, el ratio A/G estaba fuera del rango normal en un 46,35% de los casos, mientras que en el 53,65% restante se encontraba dentro de rango. Este resultado es prácticamente 50%, puede deberse a que, a pesar del aumento de las globulinas o descenso de albúminas, estos cambios no eran lo suficientemente significativos como para invertir el ratio A/G. Las alteraciones más frecuentes encontradas en este estudio son coherentes con los reportes publicados, que destacan como alteraciones comunes en el proteinograma la hipoalbuminemia con aumento de globulinas policlonales y en el leucograma, una leucocitosis con neutrofilia (Sales et al., 2017; Amusatogui et al., 2003; Baneth et al., 2022). La infección por *Leishmania* causa estrés oxidativo en los neutrófilos, esta situación oxidativa conlleva a un consumo de antioxidantes, que aprovecha el parásito para evadir el sistema inmunológico (Maia & Campino, 2018). Están descritas algunas alteraciones en el leucograma menos comunes pero también presentes como la eosinopenia, monocitosis, leucopenia o linfopenia (Maia & Campino, 2018; Meléndez-Lazo et al., 2018). Tanto la hipoalbuminemia, como la hiperproteinemia como la linfopenia son indicadores de mal pronóstico (Maia & Campino, 2018; Scayola et al., 2024).

Este estudio mostró relación estadística entre el estadio de la enfermedad y la alteración del PTG y el ratio A/G, pero no mostró ni dependencia ni correlación estadística con la trombocitopenia ni con la alteración del leucograma. Ante estos resultados, sería esperable encontrar proteinogramas alterados en estadios avanzados, como indica la literatura y como se obtienen los resultados de este estudio (60,9%) pero la aparición de trombocitopenia y el leucograma alterado no dependen del estadio en que se encuentre el animal. Por otra parte, diversos autores coinciden en que la anemia es un hallazgo muy frecuente en la leishmaniasis canina (Miró, 2007; Sales et al., 2017), no obstante, tanto en este estudio como otros como el de Amusatogui et al., (2003), la anemia fue un hallazgo poco frecuente, de la misma forma que la trombocitopenia. A pesar de que fue un hallazgo minoritario, sí que se demostró la correlación entre la titularidad de anticuerpos con la aparición de anemia en el hemograma. Paola et al., (2015) indican que la presencia de amastigotes en la médula ósea (MO) suele ser alta, y esto conlleva a una inflamación granulomatosa y una serie de cambios en la serie eritroide que contribuyen al desarrollo de anemia con trombocitopenia. Otros estudios como el de Maia & Campino (2018), dicen que, si la anemia es debida a la disminución de la eritropoyesis, como sugerían Paola et al. (2015), este tipo de anemia será normocítica, normocrómica y no regenerativa. En cambio, si se debe a un aumento de la hemólisis, es probable encontrar una anemia regenerativa, macrocítica e hipocrómica. En este estudio, se obtuvieron pocos datos sobre la presencia de amastigotes en MO, por lo que no se puede confirmar que el bajo número de casos con trombocitopenia y anemia sea debido a la ausencia de amastigotes en MO.

Los parámetros renales incrementados indican un pobre pronóstico y la insuficiencia renal es una de las principales causas de muerte en perros con leishmaniasis (Morales-Yuste et al. 2022; Paola et al., 2015; Scayola et al., 2024), en este estudio se vieron pocos casos con alteración de parámetros renales a nivel analítico, coincidiendo con el bajo número de casos que presentaron sintomatología renal. Además, este resultado podría explicar el bajo porcentaje de casos con anemia que se obtuvo, ya que algunos estudios relacionan la enfermedad renal con una alteración de la eritropoyetina que favorece la anemia (Paola et al., 2015). Si bien es cierto que no se obtuvieron muchos casos con parámetros renales alterados, Blavier et al., (2001) sugirieron que algunos síntomas digestivos como vómitos y diarreas, que en este estudio son los mayoritarios, son atribuibles a la enfermedad renal. Es de esperar que, en casos avanzados de la enfermedad, se creen depósitos de inmunocomplejos en el glomérulo renal, produciendo proteinuria, debido a la hiperproteinemia, que, lejos de ser protectora, resulta ser perjudicial generando grandes cantidades de complejos inmunes circulantes que acaban depositándose en órganos y tejidos, como el riñón (Paola et al., 2015). Tal y como indican Goldstein et al., en su consenso de 2013, la serología positiva no es una evidencia de que un agente infeccioso sea la causa de una enfermedad glomerular, aunque, en el caso de la *Leishmania*, cuando se presenta

proteinuria, la serología tiene una predicción del 98% de enfermedad glomerular. Es por esto por lo que este parámetro es uno de los principales a analizar en el diagnóstico y monitorización de la leishmaniasis (Leishvet, 2018). No obstante, en este estudio la proteinuria y la azotemia se ven poco representadas. Baneth et al., (2008), confirman que la azotemia solo se vuelve evidente en etapas avanzadas de la enfermedad, coincidiendo con los resultados estadísticos de este estudio, donde se vio que el estadio de la enfermedad y la aparición de azotemia y proteinuria eran dependientes. Por otro lado, no se pudo relacionar una titularidad alta de AC con la presencia de estas dos variables, este hecho coincide con otros autores como Maia & Campino (2018), que describen que la azotemia es un hallazgo poco común en perros con *Leishmania sp.* No obstante, dado que la mayoría de los casos de este estudio se presentaron en estadio D y, por lo tanto, era esperable encontrar lesiones renales más evidentes, sería interesante valorar la medición de enzimas como la gamma-glutamyl-transferasa (GGT), que es una enzima urinaria útil para medir la lesión tubular y podría estar presente de manera secundaria al daño glomerular (Maia & Campino, 2018).

6.5. Tratamiento y coinfecciones.

El tratamiento de perros con presentaciones atípicas o leishmaniasis complicadas no difiere del tratamiento de la enfermedad clásica (Blavier et al. 2001). La estadística demostró correlación entre los títulos de anticuerpos y el tipo de tratamiento aplicado, por lo que este estudio confirma la necesidad de adecuar el tratamiento a cada caso, valorando tanto la presentación clínica del animal como su nivel de anticuerpos. Se aplicó un tratamiento único con un leishmanioestático como el alopurinol a perros con estadio B, y leishmanioestático con leishmanicida a perros con estadios más avanzados.

Estudios recientes están demostrando la eficacia de los inmunomoduladores (Ludueño et al., 2019). Este grupo de fármacos actúan modificando de manera favorable la respuesta inmune del hospedador, ya sea inmunosuprimiendo, como los corticoides, en el caso de vasculitis, o inmunoestimulando, como el levamisol o la domperidona, que es un antiemético que estimula los linfocitos Th1 (F. de Cañete, 2010). Estos fármacos consiguen reducir la carga parasitaria y mejorar los síntomas clínicos (Gonçalves et al., 2019), por lo que cada vez más común la inclusión de estos en el protocolo de tratamiento. Llano et al., (2020), también estudiaron la eficacia de la domperidona, en este caso analizaron un protocolo donde combinaron domperidona con alopurinol y pudieron concluir que hubo una mejoría clínica y que este protocolo podría constituir una alternativa terapéutica. Además, la diferencia que puede haber en cuanto a tratamiento con una presentación clásica de

enfermedad es que se añade prednisona (0.5 mg/kg PO cada 12 horas), sobre todo en casos de poliartritis evidente o glomerulonefritis (Blavier et al. 2001).

No se recogieron datos de serologías de estos mismos casos al año post-tratamiento para evaluar la eficacia de los tratamientos aplicados o sus efectos adversos, no obstante, Paltrinieri et al., (2016) indican la necesidad de monitorizar el estado clínico, parasitológico y los posibles efectos tóxicos del tratamiento, aunque estos autores sugieren que la nefrotoxicidad de los antimoniales no está del todo confirmada. En cambio, el alopurinol induce la formación de cristales de xantina de manera muy frecuente (Torres et al., 2016) y, aunque los signos clínicos asociados no son comunes, el seguimiento de los pacientes tratados con alopurinol debe incluir siempre un análisis del sedimento urinario (Paltrinieri et al., 2016).

En este estudio se ha visto que solo un 6% de los casos fue tratado con miltefosina en vez de con antimonio de meglumine, esto puede ser debido a la eficacia demostrada por varios estudios como el de Manna et al., (2015) donde analizaron la eficacia a largo plazo entre ambos fármacos, y concluyeron que el antimonio de meglumina era más eficaz que la miltefosina. Además, este mismo estudio sugiere la necesidad de aplicar alopurinol como terapia de mantenimiento para estabilizar la leishmaniasis. Es importante recordar que cada caso debe evaluarse por individual para aplicar el tratamiento más adecuado, ya que a pesar de que algunos reportes demuestran que el AM es más eficaz que la miltefosina, Abbiati et al., (2019) reportaron un caso complicado de leishmaniasis al que se le aplicó miltefosina como tratamiento único, sin alopurinol ni inmunomoduladores, y que respondió favorablemente tanto clínicamente como en carga parasitaria.

La literatura recomienda la aplicación subcutánea de los antimoniales a dosis de 75-100 mg/kg/día desde el inicio del tratamiento, distribuido en 2 veces al día y en ciclos de 4-6 semanas; dosis de 10-20 mg/kg/día de alopurinol vía oral durante 7 meses; y dosis de 2-3 mg/kg de miltefosina vía oral durante 28 días. (Miró, 2007; Miró et al., 2009).

Una gran mayoría de los casos (80%) necesitó tratamiento extra a parte del tratamiento específico antileishmania, a pesar de que solo el 43% presentaba una coinfección. Aunque en este estudio no se demostró la relación entre el estadio de la enfermedad y la presencia de coinfecciones, es frecuente encontrar perros con leishmaniasis clínica infectados con otros patógenos, en su mayoría transmitidos por vectores (Attipa et al., 2018). Es importante recordar que la leishmaniasis modifica la respuesta celular pudiendo conllevar una inmunosupresión que hace al paciente más susceptible de coinfectarse. Es por ello que, a pesar de obtener un resultado positivo en *Leishmania sp.*, es importante

descartar la presencia de otros patógenos, sobre todo en los casos en los que hay presencia de garrapatas, o sintomatología compatible con otras enfermedades parasitarias como anemia y trombocitopenia. Además, las serologías pueden dar reacciones cruzadas cuando hay infecciones concomitantes (Abbiati et al., 2019). Miró (2007) también insiste en la importancia de incluir en los diferenciales todas aquellas enfermedades que en sus presentaciones clínicas se encuentren las lesiones cutáneas y enfermedades sistémicas como la enfermedad de Lyme, babesiosis, hepatozoonosis, etc, ya que, según su informe, es muy común encontrar perros positivos a *Leishmania* con estos procesos patológicos.

Es importante tener en cuenta la frecuencia de estas coinfecciones, ya que tienen un periodo de incubación impredecible y pueden resultar en presentaciones clínicas atípicas y peor pronóstico de la enfermedad en comparación a aquellos que solo están infectados con *Leishmania infantum* (Attipa et al. 2018)

En este estudio, la mayoría de las coinfecciones encontradas fueron bacterianas, siendo las mayoritarias *Ehrlichia* y *Anaplasma*, aunque también se encontraron casos de *Hepatozoon*, *Rickettsia*, *Shigella*, *Toxoplasma* y otras. Estos resultados coinciden con el estudio de Attipa et al. (2018) donde analizaron el riesgo que tiene un perro infectado con *Leishmania sp.* de coinfectarse con *Ehrlichia canis* u otras enfermedades infecciosas y en el que se demostró una prevalencia alta de ADN de *Hepatozoon spp.*, *Mycoplasma haemocanis*, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, y una asociación significativa entre *Leishmania spp* y *Ehrlichia canis* con una probabilidad 12 veces mayor de estar coinfectados.

Aunque se debe seguir estudiando esta asociación, Attipa et al., (2018) recomiendan realizar una PCR de *Ehrlichia canis* a perros infectados con *Leishmania sp.*, ya que, pueden suponer un obstáculo en la mejora clínica durante el tratamiento (Cortese et al. 2009). Este estudio no mostró correlación entre el estadio de la enfermedad y la aparición de coinfecciones, es decir, no hay dependencia entre que el paciente esté en un estadio más avanzado y que aumente la probabilidad de coinfectarse, pero de acuerdo con la literatura, el hecho de estar infectado con *Leishmania sp.* le hace más susceptible a la coinfección. En los casos detectados de *E. canis* en el HV UCV, se aplicó doxiciclina además del tratamiento antileishmania, de acuerdo con la recomendación de Attipa et al., (2018) y Cortese et al. (2009). Por otro lado, se recomienda a los perros infectados con *Leishmania* la prevención de la infección con *E. canis* mediante repelentes tópicos.

Caracterización de leishmaniasis canina en un hospital de referencia veterinario: estudio retrospectivo.

En este estudio, la segunda coinfección más frecuente fue la anaplasmosis, que, aunque es más prevalente en otras zonas de Europa que en España, también se ha descrito en zonas mediterráneas. Los casos de anaplasmosis se trataron también con doxiciclina, de acuerdo con Sainz et al., (2015)

Además, *Ehrlichia canis* es una bacteria bien reconocida en el área del mediterráneo, y autores como Cortese et al., (2009), describen esta coinfección como frecuente en la zona. En el HV UCV, forma parte del protocolo diagnóstico la realización de pruebas, directas o indirectas, que permitan la detección de otros patógenos considerando que esta práctica es interesante y necesaria para un mejor abordaje y tratamiento de la enfermedad, que llega al centro en estadíos avanzados y con una clínica complicada.

Como tratamiento extra, también se aplicaron glucocorticoides, aunque algunos autores como González Moreno (2019) sugieren ser cuidadosos a la hora de utilizar este grupo de fármacos por la inmunosupresión secundaria que conllevan. Como se ha mencionado anteriormente, en este estudio una mayoría de casos presentó síntomas digestivos, es por esto por lo que una de las terapias de soporte más representadas fueron las dietas específicas, suplementos alimenticios y el maropitant.

Este estudio ha presentado algunas limitaciones ya que los casos incluidos fueron nuevos diagnósticos y, al tratarse de un estudio retrospectivo, no hemos podido evaluar la eficacia del tratamiento ni la evolución de los pacientes. También habría sido interesante incluir información sobre edad, condición corporal, estilo de vida y estado de vacunación, de acuerdo con otros estudios publicados. Se recomienda realizar un estudio multicéntrico prospectivo con seguimiento para poder evaluar a esta población.

7. Conclusiones

El objetivo del estudio fue la caracterización del paciente con leishmaniasis remitido a un centro veterinario de referencia en Valencia o zona mediterránea, con los datos obtenidos y el análisis de los mismos se concluye:

1. La mayoría de los casos se diagnostican en los meses de mayo, agosto y noviembre, coincidiendo con las temporadas de mayor actividad del vector. La tendencia ascendente en diagnósticos de los últimos años sugiere una mejor implementación de técnicas, una mayor referencia de casos complejos o una mayor incidencia de la enfermedad.
2. No se pudo determinar una predisposición clara por sexo o raza, aunque sería interesante seguir estudiando estos parámetros en poblaciones similares que permitan hacer comparaciones fiables.
3. La técnica ELISA fue la más utilizada. En algunos casos se requiere la combinación con PCR o citologías. Hay que tener en cuenta el momento de la realización del ELISA, ya que en estadios tempranos puede dar seronegativo.
4. En un centro de referencia es más común encontrar perros en estadio D, con presentaciones clínicas poco habituales como los síntomas digestivos, ortopédicos y neurológicos, además de los más habituales como los cutáneos, debido a que normalmente acuden a este tipo de centros por ser refractarios al tratamiento o tener una leishmaniasis no diagnosticada muy avanzada.
5. El tratamiento más habitual fue la combinación entre antimonio de meglumine y alopurinol, o combinación con inmunomoduladores, dependiendo del estadio en el que se encuentra el paciente. Los perros en estadio B son tratados únicamente con alopurinol, en cambio a los C y D se les aplica el tratamiento combinado. Además, la mayoría de los casos necesitaron tratamiento sintomático de soporte y hospitalización.
6. Debido a la inmunosupresión causada por *Leishmania*, es probable la aparición de coinfecciones. En este estudio un 43% de los casos las presentaban, siendo la mayoría bacterias como *Ehrlichia* y *Anaplasma*.
7. Debido a las limitaciones de este estudio, se recomienda realizar un estudio multicéntrico prospectivo como seguimiento para evaluar esta población.

8. Bibliografía

- Abbiati, T. C., de Freitas, D. M., Alves, L. C., de Freitas, B. G., de Rezende, R. S., Barbosa, S. G., Jorge, A. L. T. A., dos Santos, S. M., & Lopes, M. C. (2019). Leishmaniose visceral canina: Relato de caso. *PUBVET*, *13*(4), 1-8. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n4a307.1-8>
- Adamama-Moraitou, K. K., Rallis, T. S., Koytinas, A. F., Tontis, D., Plevraki, K., & Kritsepi, M. (2007). Asymptomatic colitis in naturally infected dogs with *Leishmania infantum*: A prospective study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *76*(1), 53–57.
- Amusategui, I., Sainz, A., Rodríguez, F., & Tesouro, M. A. (2003). Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *European Journal of Epidemiology*, *18*(2), 147-156.
- Attipa, C., Solano-Gallego, L., Papasouliotis, K., Soutter, F., Morris, D., Helps, C., Carver, S., & Tasker, S. (2018). Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: A prospective case-control study. *Parasites & Vectors*, *11*, 184. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2717-8>
- Baneth, G., & Solano-Gallego, L. (2022). Leishmaniasis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, *52*(6), 1359–1375. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.06.012>
- Baneth, G., Koutinas, A., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., & Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology*, *24*(7), 324-330. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001>
- Blavier, A., Keroack, S., & Denerolle, P. (2001). Atypical forms of canine leishmaniosis. *Veterinary Journal*, *162*(2), 108–120.
- Ciaramella, P., Oliva, G., De Luna, R., Gradoni, L., Ambrosio, R., Cortese, L., Scalone, A., & Persechino, A. (1997). A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected with *L. infantum*. *Veterinary Record*, *141*, 539-543.
- Cortese, L., Pelagalli, A., Piantedosi, D., Cestaro, A., Di Loria, A., Lombardi, P., Avellone, L., & Ciaramella, P. (2009). Effects of therapy on haemostasis in dogs infected with *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, or both combined. *Veterinary Record*, *164*(14), 433–434. <https://doi.org/10.1136/vr.164.14.433>
- F de Cañete, JS. (2010). Leishmaniosis: Estado actual y perspectivas de futuro. *Anales*, *23*(1), 23-48, diciembre. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental.
- Foglia Manzillo, V., Di Muccio, T., Cappiello, S., Scalone, A., Paparcone, R., Fiorentino, E., Gizzarelli, M., Gramiccia, M., Gradoni, L., & Oliva, G. (2013). Prospective study on the incidence and progression of clinical signs in naïve dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *7*(7), e2225. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002225>

- Galán Rodríguez, A., Pineda Martos, C., Mesa Sánchez, I., Rodríguez, J. M., & Muñoz Rascón, P. (Eds.). (2019). *Medicina interna en pequeños animales: Manuales clínicos de veterinaria* (Cap. 74, p. 1133). Elsevier.
- Giannuzzi, A. P., Ricciardi, M., De Simone, A., & Gernone, F. (2017). Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: Descriptions of 10 cases and a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice*, *58*(2), 125-138.
<https://doi.org/10.1111/jsap.12650>
- Goldstein, R. E., Brovida, C., Fernández-Del Palacio, M. J., et al. (2013). Consensus recommendations for treatment of dogs with serology positive glomerular disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *27*(1), 60–66.
- Gonçalves, A. A. M., Leite, J. C., Resende, L. A., Mariano, R. M. d. S., Silveira, P., Melo-Júnior, O. A. d. O., Ribeiro, H. S., de Oliveira, D. S., Soares, D. F., Santos, T. A. P., Marques, A. F., Galdino, A. S., Martins-Filho, O. A., Dutra, W. O., da Silveira-Lemos, D., & Giunchetti, R. C. (2019). An overview of immunotherapeutic approaches against canine visceral leishmaniasis: What has been tested on dogs and a new perspective on improving treatment efficacy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *9*, Article 427. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00427>
- Gonçalves, G., Campos, M. P., Gonçalves, A. S., Medeiros, L. C. S., & Figueiredo, F. B. (2021). Increased *Leishmania infantum* resistance to miltefosine and amphotericin B after treatment of a dog with miltefosine and allopurinol. *Parasites & Vectors*, *14*(1).
<https://doi.org/10.1186/s13071-021-05100-x>
- González Moreno, J. A. (2019). Corticoides y Leishmaniosis: Juntos pero no revueltos. En *Badajoz Veterinaria* (Vol. 17, pp. 46-52).
- Koutinas, A. F., Polizopoulou, Z. S., Saridomichelakis, M. N., Argyriadis, D., Fytianou, A., & Plevraki, K. G. (1999). Clinical consideration on canine leishmaniasis in Greece: A retrospective study of 158 cases (1989–1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*, *35*, 376-383.
- Leishvet. Baneth, G., Bourdeau, P., Cardoso, L., Ferrer L., Miró, G., Oliva G., , Pennisi, M.G., Petersen, C., Solano-Gallego, L. (2018). Manejo práctico de la leishmaniosis canina y felina. *Leishmaniosis canina y felina informe para veterinarios clínicos*. Recuperado de <https://www.leishvet.org>
- Llano, E. G., Maidana, H. R., Báez, A. D., Cabrera, W. R., & Benítez, J. S. (2020). Allopurinol y domperidona en el tratamiento de leishmaniosis visceral canina. *Revista Veterinaria*, *31*(1), 20.
<https://doi.org/10.30972/vet.3114613>
- Lopes Macau, W., Cortez de Sá, J., de Carvalho da Silva, A. P., Lima Rocha, A., Mondêgo-Oliveira, R., Evangelista de Andra-de, F. H., Magalhães Cunha, C., da Silva Calabrese, K., & Abreu-Silva, A. L.

- (2017). Main lesions in the central nervous system of dogs due to *Leishmania infantum* infection. *BMC Veterinary Research*, *13*, 255.
- Ludueño, S. F., Maldonado, C., Bogado, E. F., Brem, J. C., Amarilla, O. A., & Pérez Ganeselli, M. R. (2019). Evaluación de la domperidona como terapia inmunomoduladora en caninos con leishmaniosis visceral. *En XL Sesión de Comunicaciones Científicas 2019, Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE* (p. 30). ISSN 2451-6732.
- Maia, C., & Campino, L. (2018). Biomarkers associated with *Leishmania infantum* exposure, infection, and disease in dogs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *8*.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00302>
- Manna, L., Corso, R., Galiero, G., Cerrone, A., Muzj, P., & Gravino, A. E. (2015). Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasites & Vectors*, *8*(1), 289.
- Meléndez-Lazo, A., Ordeix, L., Planellas, M., Pastor, J., & Solano-Gallego, L. (2018). Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. *Research in Veterinary Science*, *117*, 18–27.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.10.011>
- Mendonça, C. C., Costa, B. M., Brandão, K. M., Maruo, V. M., Maiorka, P. C., Machado, G. F., Cordova, C. A., Moron, S. S., Sousa, L. F., Hosomi, F. Y., Graça, D. L., & Ramos, A. T. (2013). Description of visceral, lymphatic and central nervous system lesions in dogs infected with *Leishmania* spp. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, *6*(1), 89-94.
- Miranda, S., Roura, X., Picado, A., Ferrer, L., & Ramis, A. (2008). Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. *Research in Veterinary Science*, *85*, 35–38.
- Miró Corrales, G. (2007). Canine leishmaniosis: Current status in Europe, diagnosis and control. *Acta Scientiae Veterinariae*, *35*(2), 227-229.
- Miró, G., Oliva, G., Cruz, I., Cañavate, C., Mortarino, M., Vischer, C., & Bianciardi, P. (2009). Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*, *20*(5-6), 397–404.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x>
- Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., Solano-Gallego, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., & Oliva, G. (2017). Novel areas for prevention and control of canine leishmaniosis. *Trends in Parasitology*, *33*(9), 718–730. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.05.005>
- Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine leishmaniasis: Update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Sciences*, *9*, 387.
<https://doi.org/10.3390/vetsci9080387>

- Nascimento, L. F. J., Cirilo, T. M., Gomes, D. S., Gomes, A. C. A., Lima, V. F. S., Scher, R., Jain, S., Fujiwara, R. T., & Dolabella, S. S. (2022). Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: A narrative review. *Parasitology Research*, *121*(1), 21–34. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>
- Noli, C., & Saridomichelakis, M. N. (2014). An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). *The Veterinary Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.002>
- Oliva, G., Roura, X., Crotti, A., Zini, E., Maroli, M., Castagnaro, M., Gradoni, L., Lubas, G., Paltrinieri, S., & Zatelli, A. (2008). Leishmaniosi canina: Linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte II: Approccio terapeutico. *Veterinaria*, *22*(6).
- Ortiz, O. G. P., & Roza, A. M. (2016). Leishmaniasis: Nuevos tratamientos, mecanismos de acción y sus implicaciones. *Revista Científica Del Departamento de Medicina*, *1*(1), 22–30. https://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/INBIOM/article/view/2156/1044
- Paltrinieri, S., Gradoni, L., Roura, X., Zatelli, A., & Zini, E. (2016). Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology*, *45*(4), 552-579. <https://doi.org/10.1111/vcp.12413>
- Paltrinieri, S., Solano-Gallego, L., Fondati, A., et al. (2010). Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *236*(10), 1184–1191.
- Paola, S., Avalos, A., Maidana, L., Suarez, M., Marecos, E., & Oreggioni, G. (2015). Correlación de los cambios morfométricos en riñón y médula ósea en caninos infectados naturalmente con *Leishmania sp.* *Compendio de Ciencias Veterinarias*, *6*(1), 11-16. ISSN 2226-1761.
- Perego, R., Preverbio, D., Bagnagatti De Giorgi, G., & Spada, E. (2014). Prevalence of dermatological presentations of canine leishmaniasis in a nonendemic area: a retrospective study of 100 dogs. *Veterinary Medicine International*, 374613.
- Proverbio, D., Spada, E., Bagnagatti de Giorgi, G., Perego, R., & Valena, E. (2014). Relationship between *Leishmania* IFAT titer and clinicopathological manifestations (clinical score) in dogs. *BioMed Research International*, 412808.
- Rondon, F. C. M., Bevilaqua, C. M. L., Franke, C. R., Barros, R. S., Oliveira, F. R., Alcantara, A. C., & Diniz, A. T. (2008). Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, *155*, 24-31.
- Rondon, F. C. M., Bevilaqua, C. M. L., Franke, C. R., Barros, R. S., Oliveira, F. R., Alcantara, A. C., & Diniz, A. T. (2008). Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, *155*, 24-31.

- Sainz, A., Roura, X., Miró, G., Estrada-Peña, A., Kohn, B., Harrus, S., & et al. (2015). Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites & Vectors*, 8, 75.
- Sales, E. T., de Almeida, G. K. G., de Oliveira, A. R. F., Ferreira, T. M. V., Freitas, J. C., & Nunes-Pinheiro, D. C. S. (2017). Neutrofilia e hipoalbuminemia em sangue periférico de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*. *Ciência Animal*, 27(1), 64-74.
- Scayola, M., Cedano, J., Supparo, E., & Hernández, Z. (2024). Leishmaniosis visceral: descripción de los perfiles hematológicos, hepáticos y renales en perros naturalmente infectados con *Leishmania infantum* en la ciudad de Salto (Uruguay). *Veterinaria (Montevideo)*, 60(221), e20246022101. <https://doi.org/10.29155/VET.60.221.1>
- Scayola, M., Supparo, E., Cedano, J., & Hernández, Z. (2019). Leishmaniosis visceral: presentación en perros de la ciudad de Salto, Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 55(211). <https://doi.org/10.29155/vet.55.211.6>
- Segarra, S., Miró, G., Montoya, A., Pardo-Marín, L., Boqué, N., Ferrer, L., & Cerón, J. (2017). Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 239(February), 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.04.014>
- Serafim, T. D., Iniguez, E., & Oliveira, F. (2019). Parasite of the Month: *Leishmania infantum*. *Trends in Parasitology*. Published by Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.10.006>
- Silva, D. T., Neves, M. F., de Queiroz, N. M. G. P., Spada, J. C. P., Alves, M. L., Flóro e Silva, M., Coelho, W. M. D., Panosso, A. R., Noronha Junior, A. C. F., & Starke-Buzetti, W. A. (2016). Estudo de correlação e descrição histopatológica das lesões intestinais de cães infectados com *Leishmania infantum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 25(1), 24–36. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016009>
- Slappendel, R. J. (1988). Canine leishmaniasis. A review on 95 cases in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 10(1), 1-17.
- Solano-Gallego, L., & Miró Corrales, G. (2013). Manifestaciones clínicas y alteraciones clínico-patológicas de leishmaniosis. In *Leishmaniosis una revisión actualizada* (1 ed., pp. 53-67).
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., & Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165, 1-18.
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., & Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>

- Solano-Gallego, L., Morell, P., Arboix, M., Alberola, J., & Ferrer, L. (2001). Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 560-563.
- Solano-Gallego, L., Villanueva-Saz, S., Carbonell, M., Trotta, M., Furlanello, T., & Natale, A. (2014). Serological diagnosis of canine leishmaniosis: Comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan, ID Screen and Leishmania 96), a rapid test (Speed Leish K) and an in-house IFAT. *Parasites & Vectors*, 7(1), 111.
- Tejada Rascón, R. (2016). Artemisia annua contra la leishmaniosis canina: Cuatro casos clínicos / Artemisia annua contra a leishmaniose canina: Quatro casos clínicos / Artemisia annua against canine leishmaniasis: Four clinical cases. *Revista de Fitoterapia*, 16(2), 123-129.
- Tejada Rascón, R., & Iniesta Orozco, V. (2021). Evaluación de la eficacia de un extracto de Artemisia annua en leishmaniosis canina / Evaluation of the efficacy of an extract of Artemisia annua in canine leishmaniasis / Avaliação da eficácia de um extrato de *Artemisia annua* na leishmaniose canina. *Revista de Fitoterapia*, 19(1), 43-60. Biblioteca Nacional de Ciencias de la Salud.
- Torres, M., Pastor, J., Roura, X., et al. (2016). Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*, 57(6), 299-304.

Caracterización de leishmaniasis canina en un hospital de referencia veterinario: estudio retrospectivo.