

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

LEISHMANIASIS: ENFERMEDAD EMERGENTE EN URUGUAY

“Por”

Mónica Cecilia, MIRABALLES FERRER

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Medicina Veterinaria

Modalidad Revisión Bibliográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2013**

PÁGINA DE APROBACIÓN:

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dra. Yester Basmadijan

Segundo miembro (Tutor):

Dra. Eleonor Castro

Tercer miembro:

Dr. Edgardo Vítale

Fecha:

Autores:

Mónica Cecilia Miraballes Ferrer

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Eleonor Castro, por el tiempo invertido en esta tesis y su constante apoyo.

A la Dra. Yester Basmadjian, por sus innumerables aportes para este trabajo.

Al personal de biblioteca, por su muy buena disposición.

A los Doctores Elisa Sibils y Fernando Rossi ya que la idea de la realización de esta tesis fue en conjunto con ellos

A mi familia y amigos, en especial a Julio C. Tapia, ya que sin su apoyo incondicional el presente trabajo no podría haber sido realizado

TABLA DE CONTENIDO

Página:

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUCCIÓN	10
1.1. Importancia.....	10
1.2. Caracterización del problema.....	11
2. OBJETIVOS	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	13
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	14
4.1. GENERALIDADES.....	14
4.2. IMPORTANCIA.....	15
4.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	17
4.3.1 Viejo mundo.....	17
4.3.2. Nuevo mundo.....	18
4.3.2.1. <i>Leishmaniasis visceral</i>	18
4.3.2.2. <i>Leishmaniasis cutánea</i>	21
4.3.3. Co infección de leishmaniasis/VIH.....	22
4.4. Descripción del agente.....	23
4.4.1. Métodos de identificación.....	24
4.5. CICLO BIOLÓGICO.....	25

4.6. CARACTERÍSTICAS DEL VECTOR.....	26
4.6.1. Morfología.....	26
4.6.2. Biología.....	27
4.6.2.1. <i>Primeras etapas</i>	27
4.6.2.2. <i>Comportamiento sexual</i>	28
4.6.2.3. <i>Alimentación</i>	28
4.6.2.4. <i>Lugares de descanso</i>	29
4.6.2.5. <i>Ovoposición</i>	29
4.6.2.6. <i>Vuelo, velocidad y dispersión</i>	29
4.7. EPIDEMIOLOGÍA.....	30
4.7.1. Factores de riesgo.....	31
4.7.1.1. <i>Factores socioeconómicos</i>	32
4.7.1.2. <i>Malnutrición</i>	32
4.7.1.3. <i>Movimiento poblacional</i>	33
4.7.1.4. <i>Cambios ambientales</i>	33
4.7.1.5 <i>Cambio climático</i>	33
4.7.2. Epidemiología del vector.....	34
4.7.3. Reservorios.....	35
4.7.3.1. <i>Aspectos generales de los reservorios</i>	35
4.7.3.2. <i>El humano como hospedero</i>	36
4.7.3.3. <i>Animales domésticos y peridomésticos como hospederos</i>	36
4.7.3.4. <i>Reservorios salvajes en el Viejo Mundo</i>	37
4.7.3.6. <i>Reservorios salvajes en el Nuevo Mundo</i>	37
4.8. TRASMISIÓN.....	38
4.9. INGRESO AL ORGANISMO DEL PACIENTE.....	38
4.10. INMUNOLOGÍA.....	39
4.10.1. Inmunidad frente a parásitos.....	39

4.10.2. Respuesta inmune del animal infectado pero clínicamente sano.....	40
4.10.3. Respuesta inmune del animal infectado pero clínicamente enfermo....	41
4.10.4. Evasión inmunitaria por los parásitos.....	43
4.11. FISIOPATOLOGÍA.....	43
4.12. SÍNTOMAS.....	44
4.12.1. Caninos.....	44
4.12.2. Felinos.....	46
4.13. DIAGNÓSTICO.....	48
4.13.1. Hallazgos de laboratorio.....	48
4.13.2. Pruebas serológicas.....	48
4.13.3. PCR.....	49
4.13.4. Real time PCR.....	50
4.13.5. Estudios parasitológicos.....	50
4.13.5.1. <i>Frotis</i>	50
4.13.5.2. <i>Cultivo</i>	50
4.13.5.3. <i>Histopatología</i>	51
4.13.6. Otros Test.....	51
4.14. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	53
4.15. TRATAMIENTO.....	54
4.16. PREVENCIÓN Y CONTROL.....	56
4.16.1. Medidas de control.....	58
4.16.2. El uso tópico de insecticidas repelentes.....	60
4.16.3. El sacrificio de caninos con <i>Leishmania</i>	61
4.17. CONCLUSIONES FINALES.....	61
5. BIBLIOGRAFÍA.....	62

LISTADO DE FIGURAS

Página:

Figura 1. Distribución de la leishmaniasis visceral en el nuevo mundo.....	19
Figura 2. Distribución de la leishmaniasis cutánea y mucocutanea en el viejo mundo.....	22
Figura 3. Detalle del aparato bucal cortador chupador del flebótomo adulto.....	26
Figura 4. Los flebótomos pertenecientes al orden Diptera.....	27
Figura 5. Epidemiología de la leishmaniasis visceral.....	30
Figura 6. Manifestaciones clínicas de la leishmaniosis canina sintomática.....	46
Figura 7. Manifestaciones clínicas en felinos.....	47
Figura 8. Amastigotes en frotis realizado después de una punción-aspiración en clínica.....	51
Figura 9. Amastigotes fagocitados	51
Figura 10. Aproximación al diagnóstico de perros con signos clínicos y/o patológicos compatibles con leishmaniosis.....	52

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.	23
---------------	----

RESUMEN

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades zoonóticas de distribución mundial causada por protozoarios del género *Leishmania* y transmitida mediante la picadura de un mosquito hematófago (“mosca de la arena”) que en América Latina pertenece al género *Lutzomyia*. Su principal reservorio son los caninos domésticos y silvestres. En el hombre se presenta bajo tres formas clínicas bien marcadas: Leishmaniasis visceral (LV), leishmaniasis cutánea (LC) y leishmaniasis muco-cutánea (LMC). En los caninos sólo se reconoce una presentación clínica, también llamada LV pero con afección visceral y cutánea simultáneamente. Esta enfermedad es endémica en 98 países, principalmente de las regiones tropicales de América Latina, África y Asia. Su incidencia mundial está en aumento, ocurriendo alrededor de 2 millones de nuevos casos por año en todo el mundo, con una prevalencia de 12 millones de personas infectadas. Se estima que produce aproximadamente 59000 muertes por año. Su incidencia, letalidad y dispersión geográfica también han venido aumentando de manera preocupante en Argentina, Paraguay y Brasil. En Uruguay no se han descrito casos autóctonos. Sin embargo existe riesgo potencial de trasmisión de LV debido a que la presencia del principal vector (*Lu. longipalpis*) fue registrada en 2010 en las ciudades de Salto y Bella Unión, cerca de la población, sugiriendo la potencial urbanización de la enfermedad. Considerando la presión fronteriza de Argentina y Brasil, junto con el movimiento constante de personas y caninos por las fronteras, es necesaria la vigilancia sanitaria junto con un monitoreo de los vectores en lugares estratégicos y el control de tránsito de perros en las fronteras, como para cualquier otra enfermedad zoonótica. Como apoyo a esa vigilancia, el profesional veterinario debe estar informado sobre esta enfermedad. La presente revisión tiene como finalidad ampliar y actualizar los conocimientos sobre la misma ya que en un futuro cercano, deberá ser tenida en cuenta por todos los profesionales veterinarios del Uruguay para incluirla en los diagnósticos diferenciales de la clínica diaria.

ABSTRACT:

Leishmaniosis are a group of zoonotic diseases with world distribution caused by a protozoan of genus *Leishmania* and transmitted by the bite of bloodsucking mosquitoes ("sand fly") that in America Latina belong to the genus *Lutzomyia*. His main reservoirs are the domestic and wild canines. In man presented three well-defined clinical forms: visceral leishmaniasis (VL), cutaneous leishmaniasis (CL) and muco- cutaneous leishmaniasis (MCL). Only one clinical presentation is recognized in canines, also known as VL but with visceral and cutaneous condition simultaneously. This disease is endemic in 98 countries mostly in the tropical areas of Latin America, Africa and Asia. Its incidence is increasing worldwide, with 2 million new cases per year and a prevalence of 12 million people infected. It is estimated to produce approximately 59.000 deaths per year. Its incidence, mortality and geographic distribution have also been rising alarmingly in Argentina, Paraguay and Brazil. No autochthonous cases have been described in Uruguay. However there is a potential risk of transmission of VL due to the presence of the main vector (*Lu. Longipalpis*) registered in 2010 in the cities of Salto and Bella Union, near the population, suggesting the potential urbanization of the disease. Considering Argentina and Brazil border pressure, along with the constant movement of people and canine across the border sanitary surveillance is needed along with vector monitoring in strategic places and transit control of canines in the border like for any other zoonotic disease. As a support to this surveillance, the veterinary professional must be informed about this disease. The aim of this current review was to enlarge and update the knowledge on this matter, since in the near future it should be taken into account by all veterinary professionals in Uruguay for inclusion in every day deferential diagnosis.

1 INTRODUCCIÓN:

1.1. Importancia.

La leishmaniasis canina, es una zoonosis grave y de elevada prevalencia mundial (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2010) producida por un protozoo del género *Leishmania*. Esta enfermedad se transmite por medio de un mosquito hematófago del género *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo (Lucientes, 2005).

Constituye un problema importante de salud pública, debido a su gran impacto, magnitud y brotes epidémicos que ocurren de forma creciente en el mundo (OMS, 2010) ya que a la fecha está presente en los cinco continentes. Es endémica en 98 países, principalmente de las regiones tropicales de América Latina, África y Asia. Su incidencia mundial está en aumento, ocurriendo alrededor de 2 millones de nuevos casos por año en todo el mundo, con una prevalencia de 12 millones de personas infectadas (OMS, 2005). Es una de las enfermedades consideradas por la OMS como negligenciadas estimándose que 350 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad (Organización Panamericana de la Salud (OPS), 2013).

Su incidencia, letalidad y dispersión geográfica también han venido aumentando de manera preocupante en Argentina, Paraguay y Brasil siendo que la mayoría de los casos se reportan en este último país, dado que cuenta con un adecuado sistema de vigilancia donde la notificación de la enfermedad es obligatoria (OPS, 2013). Por lo tanto, la OPS (2013) considera que es necesario redoblar los esfuerzos en la detección y respuesta de todos los países diagnosticando y atendiendo a tiempo a las personas enfermas en un intento de evitar casos graves o letales.

En los humanos, se presentan tres formas clínicas bien marcadas:

1. leishmaniasis visceral (LV)(Fatal en un 90% si no se realiza tratamiento)
2. leishmaniasis cutánea (LC),
3. leishmaniasis mucocutánea (LMC)

En los caninos se define como leishmaniasis visceral dado que generalmente presentan la afección cutánea y visceral en conjunto (OPS, OMS, 2005).

Lutzomyia longipalpis, es el principal transmisor de leishmaniasis visceral y fue identificado en Argentina en el 2000, confirmándose los primeros casos autóctonos de LV y LC en humanos en el 2006 (Ministerio de Salud Pública (MSP), 2011).

Actualmente en Uruguay, en los departamentos de Salto y Artigas, pero principalmente en este último, se dan las condiciones ambientales propicias para el desarrollo del vector. *Lu. longipalpis* fue hallado en las ciudades de Salto y en Bella Unión, en febrero de 2010 (Salomón et al, 2011). Principalmente la localidad de Bella Unión, puede considerarse de alto riesgo para la transmisión de esta zoonosis dada su ubicación geográfica (a pocos km de donde ocurrió el foco en Monte Caseros, Argentina), ya que el río Uruguay puede ser cruzado fácilmente y no debería ser considerado barrera para esta enfermedad y al hecho de que existen muchos caninos sin dueño. Por esta razón, en 2011 se realizó una encuesta serológica usando el test rápido de *Leishmania* (TRL) a 100 perros, resultando todos negativos (MSP, 2011).

Dos casos clínicos caninos se presentaron en nuestro país en los últimos años, uno de ellos sin tipificación de especie, ni registro de posible transmisión vertical (Pacheco et al., 2009) y el otro, importado (Martínez, 2012). Sin embargo, hasta la fecha no hay reportes de leishmaniasis canina autóctona en el Uruguay (Scavone, 2013).

1.2. Caracterización del problema.

La dispersión de *Lu. longipalpis* desde Paraguay hacia el sur, ya fue reportada por Argentina y demostrada por la presencia del vector en Salto, el cual fue hallado en el zoológico. Es interesante destacar que, en Bella Unión, el vector se encontró en la ciudad, en el fondo de una casa, sin presencia de ambiente selvático, lo que estaría demostrando la urbanización de la enfermedad (Salomón., et al 2011). Si bien la leishmaniasis tiende a tener un ciclo más rural o silvestre de transmisión, la urbanización de esta enfermedad ya se ha expandido mucho, principalmente en zonas de Brasil.

El diagnóstico de esta zoonosis en caninos no es sencillo, dado que su cuadro clínico es muy pleomórfico y es necesario distinguir a los animales infectados de aquellos que desarrollan la enfermedad. Cabe destacar que los fármacos disponibles no son 100% eficaces y no es recomendable su uso en caninos porque nunca se llegaría a la cura parasitaria (Figuereido, 2013). En algunos países, incluso, está prohibido el uso en caninos de fármacos destinados a uso humano por constituir un peligro epidemiológico potencial (Ferrer, 2009).

La leishmaniasis canina (LCan) también puede presentarse en países no endémicos, en perros que han viajado a países endémicos. Actualmente hay un aumento en el número de perros que viajan al exterior así como también de aquellos importados desde áreas endémicas, lo que estaría llevando a la introducción de enfermedades transmitidas por vectores hacia países donde la enfermedad es no endémica, como es el caso de Uruguay. Según un estudio realizado en Holanda (Teske, 2002 *apud* Solano- Gallego et al., 2009) 58.000 perros por año viajan con sus dueños por vacaciones desde ese país hacia el sur de Europa, siendo el riesgo de adquirir LCan entre 0,027 y 0,23%. Los

perros infectados en áreas no endémicas también pueden contribuir al mantenimiento de esta enfermedad mediante formas de transmisión sin vector (ej. venérea, transfusión sanguínea) aunque sea rara vez. Además la transmisión puede ocurrir en una nueva área donde el vector en esa zona es abundante si se importan animales de áreas endémicas (Solano- Gallego et al., 2009).

En Uruguay se estima que ingresan entre 1000 y 1200 caninos, anualmente (Guerrero R, comunicación personal, 2010). Los requisitos sanitarios para el ingreso de mascotas desde el exterior incluyen un certificado sanitario oficial del país de origen donde conste:

1. Buen estado de salud del perro, sin síntomas ni signos de enfermedades infecciosas. (Hay que destacar que la mayoría de los caninos infectados de *Leishmania*, no manifiestan signos clínicos).
2. Vacuna antirrábica vigente.
3. Tratamiento con Prazicuantel para el control *Echinococcus granulosus* .

Y sólo para el caso de solicitud de importación desde criadero, se requiere en forma adicional, Prueba negativa a *Brucela canis* y antibióticoterapia para leptospirosis (Guerrero R, comunicación personal, 2010).

Sin embargo no está incluida como requisito la prueba negativa de LCan (test serológico para diagnóstico de anticuerpos contra *Leishmania*) para ingresar al Uruguay, lo que constituye un grave riesgo sanitario para nuestro país ya que se estaría dejando a consideración del propietario la declaración del ingreso del canino con diagnóstico positivo dado que no es requisito legal hasta el momento.

En síntesis, para nuestro país, actualmente se están presentando las condiciones epidemiológicas para que la enfermedad aparezca: presencia del mosquito vector y el potencial ingreso de perros portadores de *Leishmania*,

Esta zoonosis actualmente es reconocida por la OMS como emergente y sin control en la región por lo que es fundamental su vigilancia epidemiológica para realizar el diagnóstico precoz y así controlar y detectar una posible epidemia.

Las acciones de vigilancia para la LC en la región, principalmente en Brasil, se centran en la vigilancia de los casos humanos, con la notificación e investigación de los mismos y la vigilancia entomológica, siendo los objetivos reducir las deformidades y el conocimiento de la bioecología de los vectores. En cuanto a la LV, las medidas de control incluyen la reducción de la población flebotomínica, el diagnóstico precoz y el tratamiento de los casos humanos, junto con la eliminación de los reservorios (caninos) y la educación en la salud (OMS, OPS, 2010).

La presente revisión tiene como finalidad ampliar los conocimientos sobre esta enfermedad, ya que la misma, en un futuro cercano, deberá ser tenida en cuenta por todos los profesionales veterinarios del Uruguay para incluirla en los diagnósticos diferenciales de la clínica diaria.

2. OBJETIVOS

Dado que esta enfermedad es reconocida por la OMS, como emergente y sin control el objetivo del presente trabajo fue realizar una exhaustiva revisión bibliográfica acerca de la leishmaniasis canina y su situación en el Uruguay, y así poder ampliar los conocimientos sobre esta enfermedad,

3. MATERIALES Y METODOS

Se realizó una revisión bibliográfica, con foco en su epidemiología de la leishmaniasis canina. Las principales bases de datos consultadas fueron PubMed, REDVET y SciELO. Las palabras claves más usadas fueron **Leishmaniasis canina, flebótomos, *Lu. longipalpis***.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Generalidades

La leishmaniasis canina, es una enfermedad zoonótica, causada por un protozooario difásico del género *Leishmania*, que se trasmite a través de la picadura, de un mosquito vector hembra (también conocido como “mosca de la arena”), del género *Phlebotomus* en el Viejo Mundo (Europa, Asia y África) y *Lutzomya* el Nuevo Mundo (América) (Tordoya, 2010).

Afecta en mayor medida al perro, siendo éste, el reservorio principal y en menor medida a canidos salvajes, roedores y al hombre (Vilagranda, 1990).

También, ha sido definida como una enfermedad antroponótica donde el ciclo ocurre en el hombre y el mantenimiento del parásito ocurre en reservorios animales. Si bien no es lo más común que el hombre sea reservorio de esta enfermedad en personas co-infectadas de leishmaniasis y VIH- Sida se pueden detectar cargas altas de *Leishmania* en sangre y ellas convertirse en reservorios. Esto implica dificultades específicas en el diagnóstico y tratamiento de pacientes co- infectados y riesgo de brotes antroponóticos (OPS- OMS, 2005).

La mayoría de las especies de *Leishmania* que infectan a las personas son zoonóticas (el ciclo ocurre en los animales) y sólo unas pocas son estrictamente antroponóticas (Green, 2008). A principios del siglo diecinueve, Cunningham, Borovsky, Leishman, Donovan, Wright, Linderberg, y Vianna, identificaron los parásitos que causan leishmaniasis, al cual Ronald Ross, nombró como *Leishmania*. En 1904, Cathoire y Laveran, encontraron parásitos de *Leishmania* en niños con anemia y fue Nicolle, quien la nombró como *Leishmania infantum*, y describió que el hospedero era el perro. Carini, en 1912, identificó los parásitos en lesiones mucocutáneas en pacientes en Brasil. A principios de 1940, en la India, Swaminath, Shortt y Anderson, demostraron la transmisión de *L. donovani* y *L. a tropica* por las moscas de la arena. La especificación genética se logró en 1970 junto con los análisis iso-enzimáticos y posteriormente a principios de 1980 se logró la hibridación por ADN (OMS, 2010).

El diagnóstico ha avanzado desde su descubrimiento hasta la actualidad. Sin embargo las técnicas originales de identificación de amastigotes en aspirado de bazo y lesiones en piel, permanecen hasta la fecha como métodos de referencia. En 1990, se logró la detección de ADN del Kinetoplasto por PCR, el cual es un método de alta sensibilidad y permite diagnosticar las especies en las muestras de sangre y de tejido (OMS, 2010).

En el hombre, la leishmaniasis se puede presentar en la forma cutánea (tegumentaria) (LC) o visceral (LV). La forma cutánea se caracteriza por comprometer la piel con lesiones características de tipo ulcerativo o verrugos y, a su vez, se la clasifica en localizada (LCL), diseminada y difusa (LCD) y mucocutánea (LMC). La LV o kalazar, es una enfermedad sistémica que cursa con fiebre irregular, adelgazamiento progresivo, diarrea, tos etc, de mayor prioridad que la LC, pero no se debe minimizar el papel de ésta debido a que es la de mayor morbilidad (OMS, 2005).

Esta clasificación se debe a las especies de *Leishmania* que participan. La leishmaniasis cutánea localizada (LCL) es producida por *L. major*, *L. atheopica*, *L. mexicana*, *L. amazoniensis*, *L. panamensis*, *L. peruviana*, *L. guayanensis* y *L. braziliensis*. La leishmaniasis cutánea difusa (LCD) es producida por *L. braziliensis*, *L. amazoniensis*, *L. pifanoi*. La leishmaniasis mucocutánea (LMC) es causada por *L. braziliensis*, y *L. panamensis* y finalmente la leishmaniasis visceral (LV) es producida por *L. donovani*, *L. infantum* (*L. chagasi*) (Green, 2008) (Tabla 1).

L. chagasi, agente causal de la LV en Sudamérica es considerada sinónimo de *L. infantum* en base a distintos análisis genéticos que se han realizado recientemente, como amplificación de ADN pleomorfo, análisis de la frecuencia gp63 e hibridación de *L. chagasi* y *L. infantum* (Barros, 2011). Se cree que la *L. chagasi* fue introducida al nuevo mundo por perros infectados

En los caninos, la leishmaniasis se clasifica como LV producida por *L. infantum* (*L. chagasi*). Sin embargo los perros por lo general presentan afección visceral y cutánea (Green, 2008).

4.2. IMPORTANCIA

La leishmaniasis tiene una distribución mundial estando presente al menos en 98 países de los cuales 72 se encuentran en vías de desarrollo y de éstos, 24 se encuentran en el continente americano. 350 millones de personas que viven en áreas rurales de zonas tropicales y subtropicales de estos países (zonas endémicas) están en riesgo de contraer la enfermedad. Se estima que anualmente ocurren 59.000 muertes por año a causa de leishmaniasis visceral, por lo que la OMS, la ha clasificado en la categoría 1 como enfermedad emergente y sin control (OMS, 2012). Esta zoonosis afecta principalmente a personas que viven y/o trabajan en zonas endémicas (agricultores, leñadores, pescadores, trabajadores petroleros, migrantes, etc.), turistas o militares que realizan campañas o visitan estas zonas y desarrollan la enfermedad cuando retornan a su país de origen (Green, 2008). En las Américas ocurren 65000 casos de leishmaniasis por año donde sólo en Brasil aparecen 25000 casos por año.

La Organización Internacional de Epizootias (OIE, 2010) incluye a la leishmaniasis dentro del grupo de enfermedades transmisibles que se consideran importantes desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario.

La malnutrición parece ser uno de los factores predisponentes para la progresión de la infección. Tradicionalmente, en primera instancia, se afectan los niños, pero en la actualidad puede considerarse una complicación en adultos infectados con Virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o en aquellos que reciben fármacos inmunosupresores (Green, 2008).

La letalidad de la LV en las Américas varía entre 7 y 22% (OMS, 2010). Si los pacientes no son tratados muere el 90% de ellos (Figuereido, 2013).

Su incidencia, letalidad y dispersión geográfica ha venido en aumento de manera preocupante en los últimos años en los países de la región. En Argentina, Brasil y Paraguay se ha observado un cambio en la epidemiología de la enfermedad, por lo cual se hace necesario redoblar los esfuerzos en la detección y respuesta de todos los países, diagnosticando y atendiendo a tiempo a las personas enfermas en un intento de evitar casos graves o letales (OPS, 2013).

En las Américas, se presentan 4000 casos de LV por año ocurriendo el 98% de los casos en Brasil, Paraguay, Argentina y Colombia (OMS, 2010). El control de la enfermedad se ha ido complicando, no sólo por el alto costo de los medicamentos disponibles sino porque se han registrado situaciones en las cuales los mismos no fueron producidos bajo buenas prácticas de manufactura trayendo complicaciones graves en los programas de control. Por dicha razón, la OPS (2013) ha sugerido utilizar únicamente medicamentos autorizados, registrados y controlados por la autoridad regulatoria competente.

En el año 2012 la OIE recibió informes sobre la presencia de casos de leishmaniasis en caninos de 42 países: 16 de Europa, 6 de África, 8 de Asia y 12 de América.

Los caninos, equinos y roedores, podrían tener un papel importante como nuevos reservorios de la leishmaniasis tegumentaria americana, discutiéndose, una posible adaptación de los vectores y parásitos al ambiente (Elkhoury, 2010).

A nivel regional, los perros son los principales reservorios de la LV, dado que el vector, *Lu. longipalpis*, no tiene preferencia por alimentarse en animales silvestres y sí la tiene por los caninos (Figuereido, 2013). El creciente abandono de los perros por sus dueños hace que aumenten sus tasas reproductivas y este hecho junto con la adaptación y la dispersión del vector hacia áreas urbanas, logran que se den las condiciones epidemiológicas necesarias para aumentar la transmisión de LV (OPS, 2013).

Actualmente la prevalencia de la enfermedad en los caninos de América varía de 2 a 30% (OMS, 2010).

4.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Según Verde (2011) la leishmaniasis canina, se extiende fundamentalmente por tres zonas geográficas: Brasil, China y la cuenca Mediterránea.

En la cuenca Mediterránea el perro es el principal reservorio de *L. infantum*. Sin embargo existe también un ciclo selvático de la infección que se ve mantenido por cánidos salvajes. La prevalencia encontrada en zorros mediante la técnica de PCR en Italia y España alcanza 75%, por lo que se podría llegar a considerar al zorro como un reservorio secundario de esta zoonosis. *L. infantum* ha sido detectada también en lobos, roedores, caballos y gatos, aunque el papel de estos reservorios en la epidemiología de esta enfermedad, sigue siendo cuestionado a la fecha (Verde, 2011).

4.3.1. Viejo Mundo

El microorganismo infectante de caninos en el viejo mundo, es generalmente *L. infantum* y, en raras ocasiones, también participa la *L. tropica*. Ambas ocurren en el área mediterránea y no se diferencian morfológicamente, pero por lo general los síntomas clínicos que presentan los perros infectados con *L. trópica* son de menor magnitud que los causados por *L. infantum*. Los caninos infectados con *L. tropica* generalmente son asintomáticos u, ocasionalmente, presentar pequeñas lesiones cutáneas difícilmente detectables (Green, 2000). Según Green (2008) la prevalencia, rara vez excede el 10% incluso en regiones con índices altos de infección. Lo que sucede es que en áreas endémicas existe un alto porcentaje (50%) de perros que están infectados pero que son clínicamente sanos, sin embargo el porcentaje de caninos enfermos ronda el 5% en estas áreas, por lo que la prevalencia de LCan en España y el sur de Europa varía mucho si se toma en cuenta la seroprevalencia o la infección (Verde, 2011).

La LV en humanos es causada principalmente por *L. donovani* y es causa de antroponosis en India noroccidental, Bangladesh, Nepal y partes del este de África (Green, 2000).

4.3.2. Nuevo Mundo

En América Latina, la región endémica se extiende desde México hasta Brasil, incluyendo los países de Centroamérica, Colombia, Venezuela, Ecuador y Paraguay (Cousiño, 2005).

La LV en el hombre es causada por la *L. infantum* siendo su principal reservorio los perros domésticos y silvestres. Los pollos también pueden constituir un hospedero para la alimentación de moscas areneras y el mantener pollos cerca de las habitaciones logra la atracción de animales carnívoros que podrían ser los reservorios silvestres de esta enfermedad (Green, 2000).

4.3.2.1. Leishmaniasis Visceral

En la actualidad, la LV está presente en 12 países de América, con aproximadamente 4000 casos por año (Figuereido, 2013) (Figura 1).

Paraguay: El primer caso de leishmaniasis en humanos reportado en Sudamérica fue en Paraguay, descrito por Mignione en 1911, pero era originario de Matto Grosso, Brasil, siendo el primer caso autóctono reportado en 1945. Actualmente, 90% de los casos de LV se originan en la capital Asunción, donde la transmisión urbana es un problema importante. Sucede que existe una alta proporción de perros infectados con LV en Asunción y también una alta densidad de vectores; así es que la urbanización incontrolable y el crecimiento de la población están asociados con el aumento en el número de casos (Dantas-Torres, 2009).

En Asunción la seroprevalencia de LCan se encontraba en un rango de 3,1 a 11,8% entre 1997 y 1999 (Canese, 2000), mientras que los casos humanos pasaron de 3 en el 2003 a 41 en el 2004.

Los países fronterizos tales como Argentina y Brasil, comparten una progresión epidémica de esta zoonosis.

Brasil: En Rio de Janeiro, el establecimiento y la propagación de LV, en áreas peri urbanas entre 1977 y 1990 estuvo relacionada con la llegada de perros y humanos de otras áreas endémicas y a la presencia de *Lu. longipalpis* y *Lu. intermedia* (Neri et al., 2001).

Desde 1993, Belo Horizonte, capital de Minas Gerais, viene sufriendo una epidemia de LV canina y humana. Aparentemente la enfermedad fue introducida desde ciudades vecinas, confirmándose la importancia del perro como reservorio de la enfermedad dado que los casos caninos precedieron a los casos en humanos (Neri et al., 2001). Este mismo fenómeno de

urbanización junto con el aumento de la pobreza y la malnutrición se da en Sincelejo, al norte de Colombia, donde *Lu. evansi* fue reportada por primera vez en áreas urbanas.

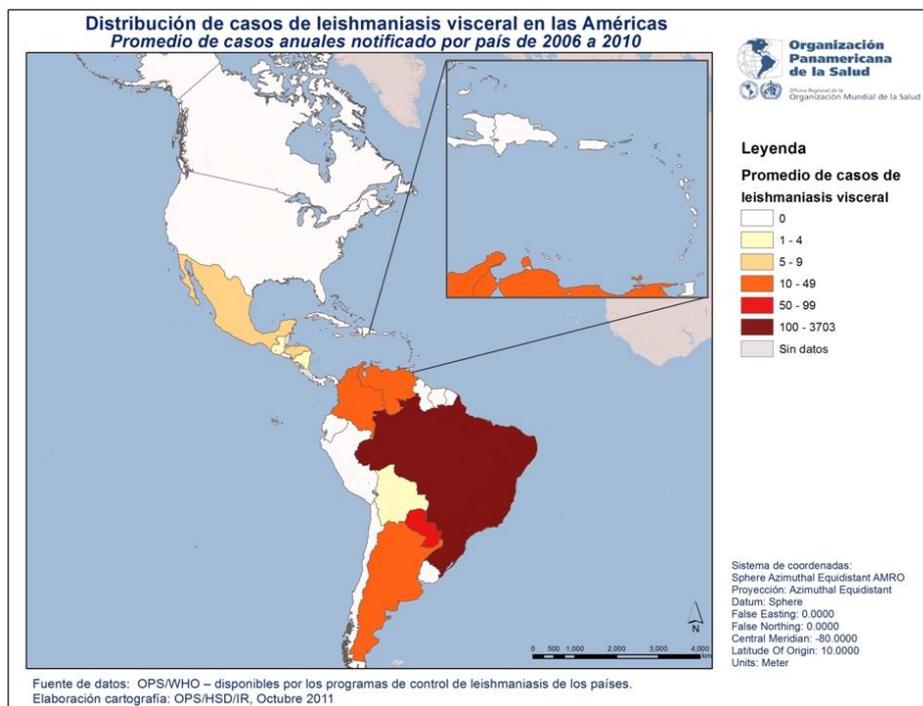


Figura 1: Distribución de la Leishmaniasis visceral en el Nuevo mundo. Fuente: OMS, 2013

Argentina: En la ciudad de Clorinda (situada en la provincia de Formosa) (25° 17'S, 57°43'W, 47.000 habitantes), los reportes de LV en humanos y en perros, vienen aumentando desde 1997. Catorce casos autóctonos fueron reportados en Argentina desde 1925 hasta 1989, antes de eso, dos casos de LV habían sido reportados pero uno había sido importado desde Brasil (Nocito et al., 2002) y el otro desde España (Martin- Sánchez et al., 2004). En 2004, se llevó a cabo una captura de flebótomos, para determinar el riesgo de transmisión existente de LV, dado que la misma se encuentra frente a la ciudad de Asunción (Paraguay), donde los reportes de casos autóctonos son un verdadero problema. Se concluyó que existe un riesgo potencial de transmisión debido a la presencia del vector *Lu. longipalpis* en lugares cercanos a la población, y al movimiento de individuos y animales cerca de la frontera y, se sugirió realizar de forma inmediata la vigilancia epidemiológica en dicha zona, para diagnosticar la leishmaniasis en humanos y en caninos. También se sugirió que la misma se acompañase con el control del tránsito de caninos por

la frontera y con el mantenimiento de las estrategias de muestreo para *Phlebotomus* (Salomón et al., 2005).

Entre mayo del 2006 y noviembre del 2009, en la ciudad de Posadas, Argentina, se diagnosticaron 39 casos en humanos de LV de los cuales 5 fueron fatales, y más de mil caninos estaban infectados con LV. En ese mismo período, se encontraron vectores a 350 km al sur de Posadas, en Corrientes, Argentina (Salomón et al., 2009) y en el estado de Río Grande del Sur, Brasil (Souza et al., 2009).

En Misiones *Lu. longipalpis*, el principal vector de LV, fue capturado en 1951, y en 2000, en dos lugares cercanos uno del otro, pero ningún caso de leishmaniasis había sido reportado hasta el momento (Salomón et al., 2001). Sin embargo, en 2012 se diagnosticaron 16 casos (11 niños y 5 adultos), de los cuales 5 niños y 1 adulto fallecieron, aumentando un 45% esta enfermedad con respecto al 2011 cuando habían sido reportados 7 casos en niños, y 4 en adultos. El período de mayor morbilidad y mortalidad fue en 2012, cuando la mortalidad fue del 14%, por eso mismo se aumentaron las medidas de prevención y control de la enfermedad reforzando la necesidad de cumplir con una tenencia responsable de mascotas así como tener también los cuidados domiciliarios adecuados para evitar la propagación del vector y frenar el avance de la enfermedad en la región (MSN, 2012).

En 2004 se encontró nuevamente *Lu. longipalpis* en el límite con Paraguay. En 2006, en Monte Caseros (Corrientes) ciudad que se encuentra frente a la ciudad de Bella Unión (Departamento de Artigas, Uruguay) se diagnosticó el primer caso autóctono de LV en humanos en la Argentina (Salomon et al., 2011).

Uruguay: Como la velocidad y la magnitud de la dispersión de *Lu. longipalpis* hacia el sur estaba siendo reportada por Argentina, por lo cual, se pusieron trampas con luz CDC para capturar flebotomos en Uruguay en el departamento de Salto y Bella Unión. Se muestrearon 32 sitios en febrero del 2010, estos eran lugares peridomésticos, con mucha vegetación y desechos de animales, cerca del límite con Argentina (Salomón et al., 2011).

Se encontraron dos vectores, ambos machos, uno de ellos se encontró en el zoológico de Salto y el otro en el fondo de una casa en Bella Unión, este fue el primer reporte de vectores transmisores de LV en Uruguay, y aunque no hay puente que conecte Monte Caseros con Bella Unión, el río puede ser cruzado en barcos, por lo tanto, no debería considerarse una barrera para la LV, ya que en los mismos pueden venir caninos infectados (Salomón et al., 2011).

En síntesis, hasta la fecha no hay reportes de casos autóctonos en Uruguay, sin embargo existe riesgo potencial de transmisión de LV debido a que la

presencia del principal vector fue registrada en las ciudades de Salto y Bella Unión, cerca de la población. Considerando la presión fronteriza de Argentina y Brasil, junto con el movimiento constante de personas y caninos por las fronteras, se hace necesaria la vigilancia sanitaria junto con un monitoreo de los vectores en lugares estratégicos y el control de tránsito de perros en las fronteras, como para cualquier otra enfermedad zoonótica (Salomón et al., 2011).

4.3.2.2. *Leishmaniasis Cutánea*

La distribución geográfica de la LC se presenta en la Figura 2.

La LC en el hombre, es causada por *L. braziliensis* y *L. mexicana*, las manifestaciones clínicas suelen limitarse a lesiones únicas o múltiples en la piel; sin embargo en la LMC las lesiones se diseminan a tejidos mucosos y es causada generalmente por la *L. braziliensis* y la *L. panamensis*. La LMC es el resultado de una metástasis posterior a la lesión cutánea que habitualmente no fue tratada. En la epidemiología de la LC y la LMC los principales reservorios son roedores en lugar de los caninos, aunque también pueden participar los equinos y felinos habiéndose aislado *L. mexicana* de nódulos cutáneos en felinos en Texas (Green, 2000).

En Venezuela, los casos de LC pasaron de ser 600/año en 1955, a 2000/año en 1998. Se cree que está dada por *L. braziliensis* proveniente de focos selváticos que, con la urbanización, fue causando focos periurbanos.

En Brasil, la incidencia de LC pasó de ser de 6.000 casos por año en 1984 a 12.000 entre 1985 y 1986, 20.000 en 1998, más de 30.000 en 1999, 33.720 en el 2000 y 35.601 en el 2001 (Figuereido, 2013). Según las estadísticas del Ministerio de Salud de dicho país, la incidencia media anual de LC fue 25.697 y de LV 3.485 en el período 2000-2010 (Ministério da Saúde, 2013).

En Uruguay, *Lu. gaminarai* fue reportado por Cordero antes de 1930, en los departamentos de Salto y de Tacuarembó. En 1928, *Lu. cortelezzi* se capturó en el Prado (Montevideo), cerca del Jardín Botánico. Entre 1917 y 1922, se diagnosticaron casos de leishmaniasis cutánea (Shattuck, 1936). Sin embargo no se reportaron casos de leishmaniasis (canina o humana), ni captura de flebotomos entre 1932 y 2009 (Salomon et al., 2011) cuando un caso de leishmaniasis canina fue reportado por Pacheco et al. (2009) en el departamento de Canelones. La caracterización del parásito en este caso no pudo ser realizada, dado que el diagnóstico fue post mortem.

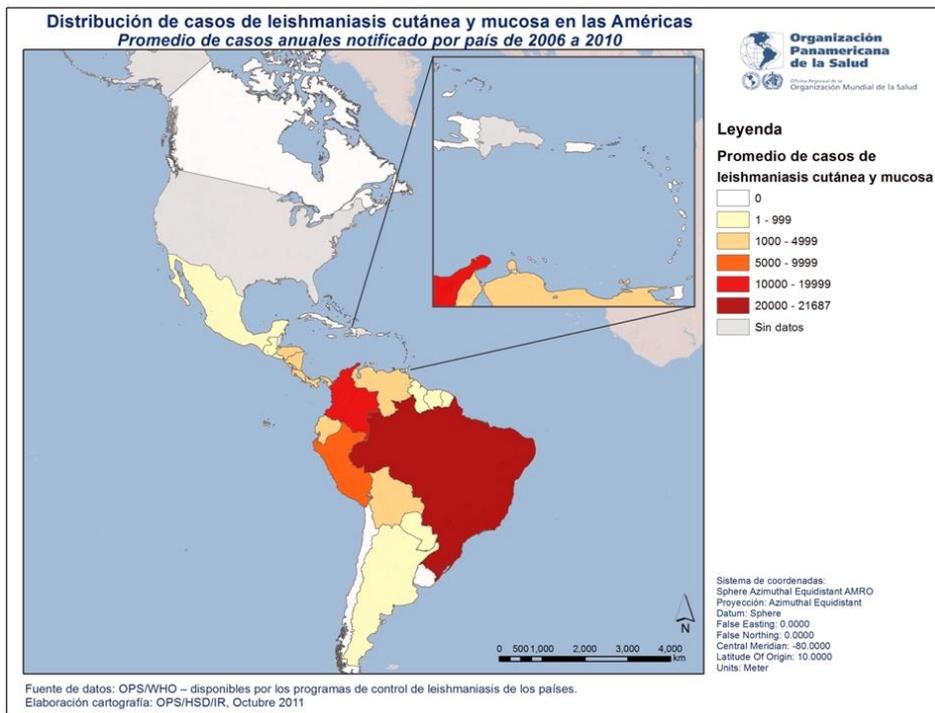


Figura 2: Distribución de la Leishmaniasis cutánea y mucocutánea en el Nuevo Mundo. Fuente: OMS, 2013.

4.3.3. Co-infección de leishmania/VIH

Es muy importante para la salud pública considerar la presencia de *Leishmania* en pacientes con VIH, dado que esta co-infección, está en aumento debido fundamentalmente a la urbanización de la leishmaniasis junto con la ruralización del VIH. Hasta el momento viene siendo reportada en 34 países, de todo el mundo, y la OMS ha establecido un sistema de vigilancia global en 28 instituciones (OMS, 2010).

En este conjunto leishmaniasis/ VIH se da una sinergia mortal, dado que ambas enfermedades tienden a deprimir el sistema inmune, lo que explica las frecuentes infecciones con patógenos oportunistas (OMS, 2010).

En los pacientes inmunodeprimidos es muy común que la infección se extienda a lugares no convencionales, como tracto gastrointestinal, pulmones, pleura y peritoneo. El esófago puede estar afectado llevando a una disfagia y odinofagia, que debe ser distinguido de la esofagitis, producida por ejemplo por una candidiasis agente frecuente en inmunodeprimidos (OMS, 2010).

4.4. DESCRIPCIÓN DEL AGENTE

El agente etiológico es un protozoo dimorfo del género *Leishmania*, que pertenece al reino Protistas, subreino Protozoa, orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae. En la actualidad se divide en dos subgéneros, según su desarrollo en el intestino de los flebótomos vectores: *Leishmania*, en el intestino medio o anterior, y *Viannia*, en el intestino posterior. Los organismos del subgénero *Viannia* de *Leishmania braziliensis* se replican en el intestino grueso (Green, 2008).

Leishmania se presenta bajo dos formas diferentes: la forma infectante, promastigota, que es móvil, flagelada, generalmente encontrada en el vector libre, alargada de 10 a 14 μm por 1,5 a 3,5 μm , que se multiplica en el intestino del vector, y migra a la probóscide del mosquito hasta ser inoculada, y la segunda forma, amastigota que es inmóvil, intracelular y presenta un flagelo rudimentario llamado Kinetoplasto. Esta forma se encuentra dentro de los macrófagos y otras células del sistema reticuloendotelial del hospedador vertebrado. Es redondeada u ovoide, de 2,5 a 5 μm por 1,5 a 2 μm . El núcleo es de tinción basofílica con las coloraciones de Wright o Giemsa y se puede visualizar un cinetoplasto de tinción oscura con forma de bastoncillo (Green, 2008).

En América Latina, los subgéneros *Leishmania* y *Viannia* contienen numerosas especies (Lorenz, 2008). En la Tabla 1 se presenta la relación entre los diferentes agentes, sus vectores y el cuadro clínico.

Tabla 1. Principales especies de *Leishmania* en las Américas y sus vectores

Subgénero	Especie	Distribución Geográfica	Presentación Clínica	Vectores
<i>Viannia</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	América del Sur y Central	LC, LMC	<i>Lu. whitmani</i> , <i>Lu. intermedia</i> , <i>Lu. wellcomei</i>
	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Norte de América del Sur	LC	<i>Lu. umbratilis</i>
	<i>L. (V.) naiffi</i>	Amazona	LC	<i>Psychodopygus davisii</i> , <i>Lu. whitmani</i>
	<i>L. (V.) lainsoni</i>	Amazona	LC	<i>Lu. umbratilis</i>
	<i>L. (V.) shawi</i>	Amazona	LC	<i>Lu. whitmani</i> ,
<i>Leishmania</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	América del Sur	LC, LCD, LV (?)	<i>Lu. flaviscutellata</i>
	<i>L. (L.) mexicana</i>	Norte de América del Sur	LC	<i>Lu. olmeca</i>
	<i>L. (L.) infantum (L. chagasi)</i>	América del sur	LV	<i>Lu. longipalpis</i>

Dentro de estos subgéneros se reconocen numerosas especies y la clasificación de éstas se basa en: la comparación de las secuencias de ADN, los patrones de migración por electroforesis de las isoenzimas, la reacción de los anticuerpos monoclonales y los antígenos presentes en las membranas (Green, 2008).

Es esencial identificar la identidad de los parásitos encontrados en cada foco, este conocimiento tiene implicancias en la epidemiología, control y tratamiento, (OMS, 2010).

4.4.1. Métodos de identificación

Debido a que los métodos de la observación microscópica no permiten distinguir las diferentes especies de *Leishmania* surgieron métodos bioquímicos para la caracterización fenotípica del parásito.

El método mayormente utilizado es el análisis de isoenzimas por electroforesis. Consiste en el estudio de la movilidad de las mismas enzimas en cultivos de promastigotes de diferentes estirpes de *Leishmania* que permite la caracterización de las mismas, según sus perfiles enzimáticos, en grupos taxonómicos electroforéticamente homogéneos, llamados zimodemos. Este método ha sido la base de la identificación. La eficiencia del método se basa en el número de sistemas enzimáticos analizados y su reproductibilidad en los distintos centros. Sin embargo su principal limitante es que se requiere aislar los parásitos en cultivos por lo que muy pocos laboratorios están actualmente usando la técnica isoenzimática (OMS, 2010).

La utilización de técnicas moleculares tales como la Reacción en cadena de Polimerasa (PCR), el análisis de restricción con endonucleasas y la hibridación molecular, han resultado ser de gran utilidad en el diagnóstico de leishmaniasis.

En el futuro estas técnicas remplazarán la identificación por isoenzimas dado que es más confiable, más rápida y puede ser empleada directamente en muestras de tejido biológico, evitando así el cultivo de los parásitos. En Venezuela se realizó un estudio sobre la aplicación de herramientas moleculares en el estudio de la leishmaniasis. Se estudiaron 781 muestras extraídas de humanos con lesiones sospechosas de LC y se determinó una sensibilidad significativamente mayor para la técnica de PCR (88,86%) que para la del cultivo (18%) (Rodríguez, 2001). Sin embargo, para la OMS (2010) la limitante de esta técnica actualmente es la dificultad para estandarizarla

En concreto se han descrito por lo menos 20 especies de protozoarios del género *Leishmania* que infectan a humanos y que causan una o más formas clínicas de la enfermedad (Tordoya, 2010) (Tabla 1). El 90% de los casos reportados de LV, se dan en Bangladesh, Brasil, India, Nepal y Sudan.

Para la LMC, se estima que el 90% de los casos se dan en Brasil, Bolivia y Perú.

El 90% de los casos de LC se encuentran en Afganistán, Brasil, Irán, Perú, Arabia Saudita, y Siria.

Si bien la infección es más común en la zona mediterránea de Europa y África, Asia occidental y regiones tropicales de Sudamérica (sobre todo Brasil), en la actualidad también se reconocen áreas enzoóticas en los Estados Unidos (por ej. Ohio, Oklahoma, Texas, New York) (Green, 2008)

En general no hay predisposición racial, pero dentro de los Estados Unidos la enfermedad se reconoce primariamente en el Foxhound (Green, 2008).

4.5. CICLO BIOLÓGICO

Las “moscas de la arena”, *Phlebotomus* spp (“moscas de la arena” del Viejo mundo) y *Lutzomyia* spp. (“moscas de la arena del Nuevo mundo), son miembros de la familia Psychodidae, pertenecientes al orden Diptera, clase Insecta (Lucientes et al., 2005).

Estos flebótomos inyectan en la etapa infecciosa los promastigotes metacíclicos, cuando ingieren sangre, estos son fagocitados por macrófagos y se transforman en amastigotes que se multiplican en las células infectadas y afectan a distintos tejidos dependiendo de que leishmaniasis sea la causante (Bowman, 2004).

Los flebótomos se infectan durante la ingestión de sangre de hospederos infectados cuando ingieren los macrófagos infectados con amastigotes. Los parásitos en el intestino de los flebótomos se diferencian a promastigotes, que se multiplican y se diferencian a promastigotes metacíclicos y migran a la epifaringe del mosquito. Pocos días después alcanzan la hipofaringe, donde los promastigotes se encuentran en número suficiente para bloquear la capacidad de alimentación del mosquito (Bowman, 2004).

El desarrollo en el mosquito desde que adquiere la infección hasta que se vuelve infectante dura aproximadamente una semana. La siguiente vez que el mosquito pica, inocula promastigotes, y como éstos tienen dificultad en su alimentación, dado que en su hipofaringe se encuentran los promastigotes en alto número, deben alimentarse más seguido que los mosquitos no infectados aumentando así la posibilidad de transmisión. A continuación los promastigotes son fagocitados por los macrófagos y diseminados por todo el organismo del hospedador. Los macrófagos sirven para diseminar el parásito por todo el organismo, los tejidos más comunes para albergar un número amplio de parásitos son: el bazo, el hígado, la médula ósea, la mucosa intestinal y los nódulos linfáticos mesentéricos. El elevado número de protozoarios en la médula ósea puede producir un descenso en el número de eritrocitos y plaquetas (Bowman, 2004).

4.6. Características del vector

4.6.1. Morfología

Los miembros de este género son moscas pequeñas, de 1,5- 4 mm de tamaño. Las patas son tan largas como las antenas, constituidas por 16 segmentos que con frecuencia tienen aspecto de perlado y peludo (Figura 3).



Figura 3: Mosquito del género *Lutzomyia* (Fotografía: Roger Ertija)

Tienen marcado dimorfismo sexual y los machos poseen una diferenciación en el segmento posterior, la genitalia externa, que le sirve para sujetar a la hembra durante la copula (Lucientes et al., 2005).

Las alas lanceoladas son casi de igual longitud que el cuerpo, y cuando están en reposo las dejan abiertas sobre el tórax en forma de “V” (Lucientes et al., 2005) (Figura 3).

La característica morfológica fundamental que se utiliza en la identificación es que el cuerpo de la mosca de la arena está cubierto por pelos finos. Las hembras tienen aparatos bucales incisivos (Figura 4) y se alimentan de sangre de una variedad de animales homeotermos, entre los que se incluye al hombre.

Los machos succionan humedad de cualquier fuente disponible e, incluso, se ha dicho que succionan el sudor de las personas (Merk, 2000).

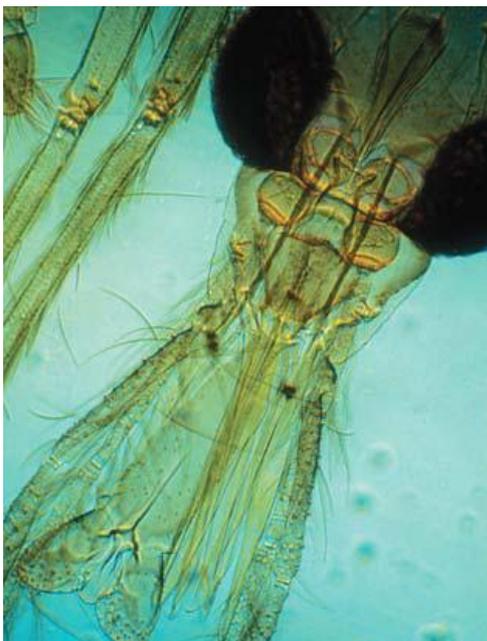


Figura 4. Detalle del aparato cortador-chupador del Flebótomo adulto. Fotografía Lucientes, et al., 2005.

4.6.2. Biología

4.6.2.1. Primeras etapas

El ciclo de vida del vector comprende las etapas de huevo, larva y pupa (ya que es de tipo holometábolo), que se desarrollan en microambientes ricos en materia orgánica, no son acuáticas y los períodos de desarrollo no son exactos dado que dependen de la temperatura, pero en condiciones óptimas de laboratorio, generalmente varía entre 40 y 45 días (Lucientes et al., 2005).

Las larvas son de aspecto vermiforme, terrestres y se alimentan de materia orgánica mediante un aparato bucal de tipo masticador, mientras que van creciendo y mudan tres veces hasta su completo desarrollo, cuando sufren un estado de pupación durante el que no se alimentan mientras que se reorganizan hasta llegar a insectos alados (Lucientes et al., 2005).

Las bajas temperaturas retrasan la evolución y las altas temperaturas acortan estos tiempos. En el laboratorio los huevos generalmente eclosionan en 7 a 10 días. El desarrollo larval lleva por lo menos 3 semanas antes de que comience la etapa de pupa; los adultos emergen de las pupas después de los 10 días con predominación de machos al principio. En algunas especies se da una diapausia en la etapa larval de cuarto estadio, en invierno, mientras que en

otras especies esto ocurre en la etapa de huevo, en ambientes cálidos y húmedos (OMS, 2010).

Estas etapas son muy difíciles de encontrar en la naturaleza, dado que los criaderos de la mayoría de los vectores permanece desconocido.

En el neotrópico, algunas evidencias sugieren que el suelo del bosque, sirve de criadero. En Venezuela, las larvas se encontraron en plantaciones de café (OMS, 2010).

4.6.2.2. *Comportamiento sexual*

Generalmente reconocen a sus parejas por feromonas y canciones producidas por los machos que logran por la vibración de sus alas. Machos de algunas especies tales como *Lu. longipalpis*, *Lu. migonei* y *Lu. argentipes* esperan a que las hembras vayan a alimentarse y durante ese momento las copulan. Este comportamiento se conoce como "Lekking" (OMS, 2010).

Según un estudio realizado por Brazil et al. (2009) en Paraguay, los machos de *Lu. longipalpis* producen un aleteo antes de la cópula, comportamiento relacionado con la liberación de feromonas durante el cortejo.

4.6.2.3. *Alimentación*

En los machos se ha encontrado ocasionalmente sangre en el estómago, pero dado que sus aparatos bucales están poco desarrollados como para lesionar la piel, se asume que puede ser tomada de alguna lesión cutánea, ya que ellos no forman parte de la transmisión. Las hembras, sin embargo, requieren sangre para alimentarse y así formar los huevos. La formación de huevos sin la ingestión de sangre, ocurre en algunas especies para la primera ovoposición y así es posible determinar si han sido alimentadas antes o no, mediante el estudio de los ovarios y el ciclo folicular (OMS, 2010).

Las hembras que encuentran un hospedador, al chupar sangre, eliminan feromonas que atraen a más hembras, para su alimentación, y a los machos para que sea asegurada la fecundación (Lucientes, et al, 2005).

La preferencia de los vectores por distintos vertebrados, depende de cada especie y de la presencia de hospederos, pero se ha comprobado, que de ser posible prefieren al perro (cinófilos) (Lucientes et al.,2005). Durante la alimentación, la saliva junto con los parásitos ingresa al organismo del hospedero, sin embargo muchas picaduras infectantes dan lugar a un aumento en los anticuerpos a las proteínas salivares que pueden alterar el curso de la enfermedad (OMS, 2010).

Comidas con azúcar sirven como fuente de energía para los mosquitos y esto, a su vez, ayuda en el desarrollo de los parásitos en el intestino de los

mosquitos. Tanto los machos como las hembras se alimentan de miel y productos azucarados, incluso algunas especies como *Lu. longipalpis* se alimentan del néctar de las flores en los laboratorios (OMS, 2010).

4.6.2.4. Lugares de descanso

Durante el día, los mosquitos viven en nichos húmedos, fríos, incluso pueden ser cuartos, establos, o grietas en la pared, vegetación densa, agujeros en los arboles, nidos de aves y termitas. Dependiendo de los hábitos de cada especie de mosquito, existen distintos lugares donde se los puede encontrar. Las hembras de muchas especies de mosquitos generalmente son exófagos, o sea que se alimentan fuera y exofílicos, que permanecen fuera mientras los huevos están madurando, entonces no pueden ser controladas mediante la aplicación de insecticidas dentro de los hogares. Por el contrario hay especies que son endofílicos y pueden ser controladas de esta manera (OMS, 2010).

4.6.2.5. Ovoposición

El tiempo entre la ingesta de sangre y la ovoposición, varía dependiendo de cada especie. El número de huevos depende de la cantidad ingerida de sangre pero puede llegar a ser de 200 huevos (OMS, 2010).

Algunas especies de hembras, son gonotrópicas concordantes que quiere decir que los ovarios se desarrollan cuando una toma de sangre es ingerida y las hembras no necesitan una segunda comida durante la ovoposición, pero otras son gonotrópicas discordantes, que no tiene relación entre la digestión de sangre y la ovoposición y más de una toma de sangre puede ocurrir durante un sólo ciclo de ovoposición como es el caso de *Lu. longipalpis* (OMS, 2010).

Desde que ingieren sangre y son fecundadas, las hembras se ocultan por 6 a 9 días para digerir la sangre y para que terminen de desarrollarse los huevos. Luego buscan un lugar adecuado para la puesta de huevos que la realizan en lotes para así asegurar la supervivencia de las larvas. En la cubierta de los huevos, también se hallaron feromonas que facilitarían que otras hembras pongan huevos en la misma zona, aumentando la supervivencia también (Lucientes et al., 2005).

4.6.2.6. Vuelo, velocidad, y dispersión

Las especies peri- domésticas se mueven comúnmente más de 1km en la noche, e incluso fueron capturadas a 1,5 km del lugar de liberadas

La velocidad está calculada en 1m/s, y los mosquitos no pueden volar a la velocidad del viento, por eso su dispersión está limitada. Cuando aumenta el viento, ellos tratan de volar cerca del piso (OMS, 2010).

4.7. EPIDEMIOLOGÍA

La chance del hombre o los caninos de infectarse depende de su integración con el ecosistema.

El ciclo natural de la infección incluye un mosquito vector y un hospedero vertebrado. (Figura 5). Las hembras de los mosquitos son hematófagas y albergan los promastigotes en sus intestinos y transmiten el parásito durante la ingesta de sangre a personas y animales domésticos o silvestres, donde se desarrolla la forma amastigote (Green, 2008).

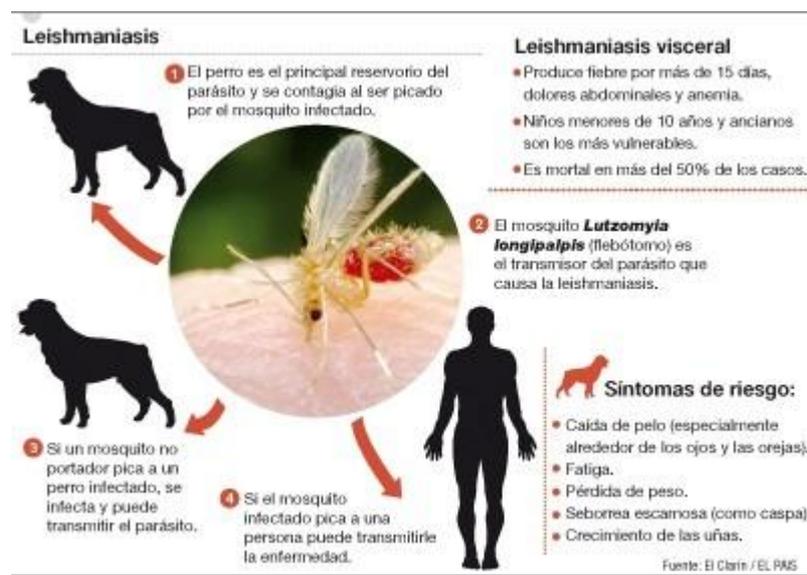


Figura 5. Epidemiología de la leishmaniasis visceral. Fuente: Diario El País.

Algunas especies de mosquitos transmiten sólo una especie de *Leishmania*, mientras que otras son vectores para dos o más especies. Este hecho está relacionado con la capacidad de los promastigotes para unirse a los receptores en los intestinos: cuando no logran esta unión, los parásitos son excretados con las heces de los mosquitos (Green, 2008).

Los perros domésticos, se consideran el principal reservorio de LV para las personas, donde *L. infantum* es el agente causante de la infección, pero el principal hospedero reservorio para *Leishmania* spp que causa LC y LMC son los roedores y otras especies salvajes. Todos los cánidos salvajes pueden ser asintomáticos o mostrar signos de infección. Los gatos domésticos rara vez se consideran como hospederos. (Green, 2008).

La infección canina, se da generalmente, en las zonas rurales, o en las afueras de las ciudades. Sin embargo, en la actualidad, se ha ido expandiendo a las

zonas urbanas, debido al cambio climático, a la deforestación etc. (OMS, 2007).

Existen factores de riesgo que deben ser considerados para comprender mejor la epidemiología de la enfermedad

4.7.1. Factores de riesgo

Algunos factores de riesgo están directamente relacionados con el hombre, tales como la urbanización, la migración, la deforestación, la malnutrición y las enfermedades inmunosupresoras. Los cambios climáticos a largo plazo podrían llevar estos vectores a lugares previamente libres. Un estudio realizado en Austria, demostró que el aumento de 1°C en julio podría llevar a la presencia de *P. neglectus* spp en zonas previamente libres (OMS, 2010).

La relación ecológica entre la actividad humana y los reservorios son determinantes para la infección humana. Sin embargo, la leishmaniasis también puede transmitirse compartiendo jeringas, cosa que ocurre en los adictos a drogas intravenosas, también por la transfusión de sangre y de forma congénita, pero éstas no son las formas más comunes de la transmisión (OMS, 2010).

El rango de edad que más se ve afectado depende del tipo de *Leishmania* que esté involucrada en cada foco, por ejemplo si el mismo es causado por *L. infantum*, la enfermedad se da más que nada en niños menores de 5 años, sin embargo si el agente causal es *L. donovani* el rango, frecuentemente, se encuentra entre los 13 a 23 años de edad. Igualmente, los adultos inmunodeprimidos están en riesgo de contraer la enfermedad si ingresan a algún lugar donde la enfermedad sea endémica (OMS, 2010). Las personas con alguna inmunodeficiencia, como es el caso de los co- infectados con VIH y leishmaniasis visceral, no tienen cura y aquellos que tienen recuentos de células CD4+ menores a 200cél/ µl, tienen recaídas muy frecuentes hasta que dejan de responder a toda la medicación utilizada. Ellos generalmente tienen altas cargas parasitarias lo que ayuda a aumentar la diseminación de la infección, además estos pacientes son altamente infectivos para los mosquitos (OMS, 2010). Cabe destacar que la coinfección de LV y VIH ha aumentado, principalmente en Europa donde entre 25% a 70% de los casos con LV están asociados a HIV. De los 88 países endémicos para LV en todo el mundo, 33 ya relatan casos de co-infección. En Brasil, el número de casos de coinfección aún es muy bajo (33 en 2002), pero el aumento de la incidencia y ruralización de los casos de HIV y la urbanización de la LV posiblemente aumenten el número de casos en dicho país.

Las condiciones bajo las cuales los humanos se infectan varían mucho dependiendo en tiempo y espacio. En muchos focos la leishmaniasis es una zoonosis (el ciclo ocurre en los animales) y la introducción de los humanos en

lugares selváticos resulta en un alto riesgo de contraer la enfermedad. En otros casos la leishmaniasis es exclusivamente antroponótica (el ciclo ocurre en el hombre), y en algunos lugares tanto del Nuevo Mundo como del Viejo Mundo puede ser peridoméstica o doméstica (OMS, 2010).

4.7.1.1. Factores socioeconómicos

El aumento de la pobreza es un factor de riesgo para la leishmaniasis en muchos aspectos. Las casas con pobres condiciones sanitarias y edificaciones aumentan la presencia de flebótomos ya que los mosquitos encuentran lugares propicios para descansar, y el contacto con humanos es mayor. Por otro lado, el número elevado de personas en un mismo ambiente puede aumentar la presencia de flebótomos antroponóticos dado que tienen una mayor fuente de alimentos. En los suburbios de ciudades del suroeste de Asia, la alta densidad de la población con pobres medidas de higiene ha aumentado la exposición al vector *P. sergenti* provocando importantes focos antroponóticos de LC por *L. tropica*. Por otro lado, la epidemiología de la leishmaniasis se viene alterando. La LV, a pesar de que se sigue manteniendo como enfermedad rural la misma se está urbanizando ya que se han reportado casos en la India (Patana y Bombay) asociados a la presencia de materia fecal de vacas que provee oportunidades para que el vector se establezca (OMS, 2010).

Algunos ciclos de transmisión de LV zoonótica en Brasil, se están dando actualmente en las zonas marginadas de aéreas periurbanas, donde el ciclo selvático se acerca a los humanos. Con frecuencia cada vez mayor se identifican nuevos focos de transmisión en áreas urbanas debido a la adaptación del insecto vector a esos ambientes. Actualmente, ocurre transmisión autóctona de la leishmaniasis en todos los estados brasileros con brotes epidémicos recientes en muchas capitales de estado lo que demuestra que la leishmaniasis está en franca expansión (Reni, 2012).

4.7.1.2. Malnutrición

El estado nutricional resultante de una mala alimentación asociada a la pobreza aumenta la probabilidad de que la LV prosiga y manifieste sintomatología clínica (OMS, 2010).

La deficiencia de proteínas, energía, hierro, vitamina A y zinc aumentan, también, el riesgo de que progrese la infección y se manifieste la enfermedad. Estudios recientes en ratones demostraron que la deficiencia de todas éstas causa una falla en los nódulos linfáticos lo que aumenta la rápida visceralización de la enfermedad (OMS, 2010).

4.7.1.3. Movimiento poblacional

Las epidemias de LV como LC en el Nuevo Mundo y en el Viejo Mundo están asociadas con la migración de humanos no inmunes hacia áreas endémicas (OMS, 2010). En países no endémicos, el padecimiento aumentó debido al tráfico internacional cada vez mayor de turistas e inmigrantes acompañados de sus mascotas (Green, 2009).

En América, el grupo de riesgo para contraer la leishmaniasis lo constituyen los trabajadores rurales, las personas que viven cerca de la selva (mineros, constructores de carreteras), montadores, y los viajeros en busca de turismo ecológico.

La actividad militar en la selva aumenta la incidencia de la enfermedad. Por ejemplo, en Colombia, las operaciones militares resultaron en más de 45000 casos de LC en soldados entre 2005 y 2010. Miles de casos ocurrieron en soldados del Reino Unido, que estaban ofreciendo servicios en Iraq y Afganistán (OMS, 2010)

4.7.1.4. Cambios ambientales

En la mayoría de las regiones endémicas, la leishmaniasis se caracteriza por tener una distribución focal que es debida a condiciones microecológicas que afectan el vector, el hospedero reservorio y a los parásitos. Dependiendo de la ecoepidemiología de un foco particular los cambios realizados por el hombre sobre la misma pueden determinar un aumento o un descenso en la transmisión de la enfermedad (OMS, 2010).

Los cambios ambientales que pueden aumentar la incidencia de la enfermedad incluyen la urbanización, la domesticación del ciclo de transmisión, la incursión de explotaciones agrícolas, y los asentamientos en zonas boscosas. En algunas situaciones la deforestación y la destrucción de los hábitos naturales deberían disminuir la transmisión de leishmaniasis, sin embargo en algunos casos la deforestación aumenta la infección humana, dado que la transmisión se vuelve peridoméstica (OMS, 2010).

4.7.1.5. Cambio climático

Los cambios en el ambiente tienen una gran influencia en la epidemiología de la leishmaniasis y ha sido sugerido que la distribución geográfica está relacionada con el cambio climático causado por el calentamiento global dado que la leishmaniasis es una enfermedad sensible al clima por lo tanto se ve afectada por las lluvias, los aumentos de temperatura atmosférica y humedad. El calentamiento global así como la degradación de la tierra afectan la epidemiología de la leishmaniasis en numerosos aspectos, por ejemplo

cambios en la temperatura, humedad y lluvias tienen grandes efectos sobre los vectores y los reservorios alterando su distribución y sobrevivencia así como también el tamaño poblacional, secundariamente cambios pequeños en la temperatura tienen una gran influencia en el desarrollo de los promastigotes en los mosquitos permitiendo su transmisión en aéreas previamente no endémicas de la enfermedad (OMS, 2010). Es así que el desarrollo óptimo de los vectores requiere un rango de temperatura entre 17 a 30°C, siendo temperaturas por encima de los 40°C fatales para los huevos y las larvas y las menores a los 10°C retrasarían su desarrollo, llegando incluso a matarlos si llegan a 0°C. La humedad requerida es muy alta, cercana a la saturación y suelos secos o casi permanentemente escarchados no ofrecen un buen sitio para que se desarrollen (Lucientes et al. 2005). Por otro lado, las inundaciones, la sequía, el hambre, resultantes de los cambios climáticos dan lugar a los desplazamientos de las personas hacia lugares con transmisión de leishmaniasis y la mala alimentación podría comprometer a su inmunidad (OMS, 2010).

4.7.2. Epidemiología del vector

Los flebotomíneos están confinados principalmente a las regiones tropicales y subtropicales del mundo.

Las horas de actividad diaria están condicionadas por la temperatura y la humedad relativa del ambiente. Las temperaturas favorables para las picadas se encuentran entre los 15° y 28°C y la humedad relativa entre 60 y 100%. Por lo tanto su actividad se centra a la caída de la noche, cuando esta última es alta (Lucientes et al., 2005). Durante el día, la mosca de la arena, buscan protección en grietas y cuevas, en la vegetación y dentro de edificios oscuros. Su forma de vuelo es muy particular, a manera de saltos, siendo detenidos por las corrientes de aire, por muy suaves que sean (Merk, 2000), manteniendo un vuelo bajo y silencioso. El área de vuelo puede alcanzar hasta 200 mts, pero pueden ser transportados por el viento hasta distancias mayores (Lucientes et al., 2005)

Con frecuencia se refugian dentro de las madrigueras de los roedores, estos mamíferos pueden servir como hospedadores reservorio para *Leishmania spp.* Se encuentran cerca de las habitaciones humanas, próximos a restos orgánicos como material de descomposición de hojas, restos alimenticios, basura, etc. Las moscas de la arena se reproducen en ambientes oscuros y húmedos que dispongan de un aporte de materia orgánica, la cual sirve como alimento a las larvas. A diferencia de *Aedes aegypti* no se reproducen en ambientes acuáticos lo que dificulta mayormente su control (Merk, 2000). Los huevos se encuentran en cuevas de animales, troncos de árboles, orificios en

las paredes y al abrigo de animales peridomésticos como gallineros y establo o cerca de la basura.

4.7.3. RESERVORIOS

La leishmaniasis, se puede dividir en dos grupos: a) leishmaniasis zoonótica: en la cual los reservorios son animales domésticos o salvajes, y b) la leishmaniasis antroponótica, en la cual el reservorio es el humano. Aunque la mayoría de las especies de *Leishmania* caen en una categoría u otra, hay excepciones, por ejemplo la leishmaniasis cutánea causada por *L. tropica* generalmente es antroponótica, pero en algunos focos se ha visto que deriva de otros animales distintos al hombre. La mayoría de las *Leishmania spp* que causan LC son zoonóticas y el humano es sólo, en pocas ocasiones, una fuente de infección (OMS, 2010).

El sistema ecológico en que *Leishmania* se mantiene por tiempo indeterminado consta de las “moscas de la arena” y de algunos mamíferos que funcionan como hospederos reservorios. Usualmente existe un hospedero reservorio determinado para cada especie de *Leishmania* (ej, *L. infantum* en perro), sin embargo otros mamíferos en la misma área pueden infectarse y actuar como hospederos menores sin especificidad de especie de *Leishmania* (ej. gato para *L. infantum*, *L. braziliensis* y *L. amazoniensis*) con algún rol en el mantenimiento del sistema, y pasan un foco enzoótico a los humanos (OMS, 2010).

4.7.3.1. Aspectos generales de los reservorios:

No todos los animales que están infectados se consideran hospederos. Para ello se necesitan una serie de condiciones, tales como:

- Deberá ser abundante en la naturaleza y vivir lo suficiente como para ser proveedor de alimento para los mosquitos.
- Es requerido un contacto intenso entre el hospedero y el mosquito, así un mosquito que ha picado a un hospedero infectado, tendrá la posibilidad de picar a otro y así infectarlo.
- El curso de la infección en un hospedero deberá ser el suficiente como para sobrevivir una temporada de no transmisión y para ello el parásito deberá ser lo menos patogénico posible para el hospedero.
- Los parásitos deben ser capaces de sobrevivir en la piel y en la sangre lo suficiente y en grandes cantidades como para que otro mosquito los ingiera y así pueda sobrevivir.

Los mamíferos domésticos, y selváticos, pueden o no mostrar signos de infección. Generalmente tienen pocos amastigotes en la piel y no se genera una gran respuesta de los hospederos. Sin embargo los caninos, que son hospederos reservorios de la LV por *L. infantum*, pueden llegar a morir por la infección, en ellos los parásitos son muy abundantes en la piel y vísceras

4.7.3.2. El humano como hospedero

Los humanos están directamente involucrados como reservorio en dos formas de la enfermedad: LV causada por *L. donovani* y LC causada por *L. tropica*. También han actuado como reservorios en algunos casos para *L. braziliensis*, *L. panamensis*, y *L. guayanensis*. Los humanos coinfectados con VIH, son altamente infecciosos y pueden jugar un rol en la transmisión en algunas zonas.

4.7.3.3. Animales domésticos, y peridomésticos como hospederos

Los perros, en el Viejo Continente, son los principales reservorios de *L. infantum*, también se han visto infectados por otras *Leishmania* spp. Los perros naturalmente infectados pero asintomáticos han sido demostrados infecciosos para los mosquitos, por lo que el rol que juegan en el mantenimiento del ciclo, no debe ser subestimado ya que más del 50% de los perros infectados permanece asintomático. Los perros también han sido infectados por *L. panamensis* y *L. peruviana* (OMS, 2010).

En América, se han encontrado infectados perros, caballos, burros y mulas por *L. braziliensis*. En Venezuela, en las áreas urbanas y suburbanas los equinos actúan como reservorio de *L. braziliensis*. Sin embargo, cabe la posibilidad de que se presenten infecciones mixtas. Por ejemplo, en 2011, en Brasil, se detectó el primer caso autóctono de infección mixta de *L. infantum* y *L. braziliensis* en equinos, siendo que, hasta el momento, la infección por *L. infantum* en equinos había sido únicamente diagnosticada en el Viejo Mundo. Por lo tanto, se recomienda que las Clínicas Veterinarias estén al tanto, de que la infección por *Leishmania* puede ocurrir en los equinos y debería estar presente en los diagnósticos diferenciales de la clínica diaria. Actualmente, los estudios epidemiológicos están siendo llevados a cabo para determinar el rol del equino como reservorio en la leishmaniasis cutánea y visceral y su importancia en el mantenimiento del ciclo y transmisión de las mismas (Soares et al., 2013).

El rol del gato en esta zoonosis no está del todo determinado, mientras que para algunos autores los felinos pueden ser un hospedador secundario, para

otros, son considerados un reservorio. Existe evidencia creciente que los gatos, cumplen algún rol en el mantenimiento de la *L. infantum*, Se ha confirmado que los mismos pueden infectar a los flebótomos que se alimentan de ellos (Sainz, 2011).

4.7.3.4. Reservorios salvajes en el Viejo Mundo

Un gran número de caninos salvajes, tales como el zorro, chacal, o lobo se han encontrado infectados por *L. infantum*, tanto sea del Viejo Mundo o del Nuevo Mundo. El rol de estos animales como reservorios ha sido estudiado pero no del todo establecido (OMS, 2010). Se han descrito diferentes roedores según el foco. *Rhombomys opimus*, el gran jerbo, es el reservorio primario de *L. major* en Asia Central (OMS, 2010).

4.7.3.5. Reservorios salvajes en el Nuevo Mundo

El zorro comúnmente se infecta con *L. infantum*, este generalmente visita lugares periurbanos, y adquiere la infección de perros que viven en esas zonas (OMS, 2010).

Varias especies de perezosos son reservorios importantes de varias especies de leishmania. *Cholepus didactylus* es un reservorio primario de *L. guyanensis* en Brasil y es el responsable del mantenimiento de la zoonosis en el bosque. Esta misma especie es reservorio para *L. shawi* en el Amazonas. *Cholepus hoffmani* es el principal reservorio de *L. panamensis* en Brasil, Colombia, Costa Rica y Panamá, donde el 19,3% de ellos se encontraron infectados, el parásito estaba presente en la piel, la sangre, la médula ósea, el hígado y el bazo (OMS, 2010).

Tamandúa tetradactyla (oso hormiguero), es el principal reservorio en la transmisión de *L. guayanensis* en Brasil, y ha sido sugerido que sus hábitos nómades son responsables de la dispersión del parásito (OMS, 2010).

Didelphis marsupialis (zarigüeya) es un reservorio secundario para *L. guayanensis* y *L. infantum* en Brasil (OMS, 2010).

L. braziliensis se ha aislado de roedores y ha sido identificada por métodos moleculares en varios estados de Brasil. Varias especies de roedores pueden actuar como hospederos secundarios de *L. amazonensis* a veces sin ningún problema evidente de piel. Las ratas se han encontrado infectadas con *L. amazonensis* en plantaciones de pinos en Brasil (OMS, 2010).

4.8. TRANSMISIÓN

Las leishmaniasis son un grupo de enfermedades transmitidas al hospedero mamífero (perro doméstico, roedores, marsupiales, equinos, hombre, etc.) por la picadura de un mosquito vector hembra, de dos a tres milímetros de largo del género *Phlebotomus* en el Viejo Mundo (Europa, Asia, y África) y *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo (América) (Tordoya; 2010).

En la actualidad, se consideran otras vías de transmisión que han sido demostradas en perros, pero su importancia no es aún muy conocida. Dichas vías son transmisión vertical (intrauterina, de madre a crías) y la transfusión sanguínea que sería de importancia en zonas endémicas de la enfermedad por las donaciones de sangre y, también, la transmisión venérea, ya que se ha detectado que caninos enfermos, a través del semen infectan hembras sanas. (Green, 2008).

Otras hipótesis que existen sobre la transmisión de la leishmaniasis pero que aún no han sido demostradas son la transmisión por vectores como la garrapata y la pulga y la transmisión mediante el contacto directo, hipótesis que está siendo considerada debido a la existencia de casos autóctonos en zonas no endémicas, donde no se ha registrado la presencia de ningún vector como sucedió en Estados Unidos (Miro, 2011.). Se ha comprobado la presencia de *Leishmania* en los ciegos intestinales de *Rhipicephalus sanguineus* luego de ingerir sangre de caninos infectados, pero su competencia como vector no ha sido confirmada (Green, 2008).

4.9. INGRESO AL ORGANISMO DEL PACIENTE

Con la picadura de la mosca, los promastigotes de *Leishmania* se transfieren, mediante la saliva del insecto, a la piel del hospedero vertebrado. El primer contacto del parásito es con el sistema neuroendócrino, mediante liberación de sustancias después del estímulo nervioso ocasionado por el corte en la piel del aparato chupador del insecto. Estas sustancias estimulan la aproximación de células inflamatorias para el local de la picadura, principalmente macrófagos y neutrófilos. Los promastigotas son fagocitados por los macrófagos, pierden su flagelo y se multiplican como amastigotes dentro de los fagolisosomas por fisión binaria. El macrófago sufre apoptosis y los amastigotes se liberan invadiendo a otras células del hospedero, diseminándose hacia otros tejidos, viajando por el sistema hemolinfático y produciendo, una infección generalizada (Green, 2008).

Cualquier perro es susceptible a la enfermedad, a través de la picadura de flebótomos infectados, pero que el individuo presente síntomas clínicos, dependerá de su sistema inmune, de la presencia de otras parasitosis concomitantes y de la patogenicidad de la cepa de *Leishmania* (Fariñas, 2011).

La infección al principio no genera síntomas clínicos evidentes, pero luego puede avanzar convirtiéndose en una enfermedad sintomática, a menos que los mecanismos de defensa actúen de forma eficaz deteniendo la replicación de amastigotes (Green, 2008)

Es así entonces que tenemos animales susceptibles, que son aquellos con tendencia a desarrollar la enfermedad clínicamente y una infección, y animales clínicamente resistentes que eliminan al parásito o restringen la enfermedad, permaneciendo asintomáticos (Green, 2008).

4.10. INMUNOLOGÍA:

4.10.1. Inmunidad frente a los parásitos:

La mayoría de las infecciones parasitarias son crónicas, debido a que la inmunidad innata es débil y a la habilidad de los parásitos para evadir o resistir la eliminación por la respuesta inmune adaptativa, además de esto muchas veces los tratamientos no logran ser efectivos, por eso mismo, son muy importantes los estudios que se están realizando en vacunas profilácticas contra enfermedades parasitarias (Abbas; 2007).

La respuesta inmune innata, es la primera línea de defensa que tiene que superar el parásito cuando ingresa al organismo de un hospedero, y generalmente estos organismos son capaces de sobrevivir replicándose en los hospederos dado que están bien adaptados para resistir las defensas del hospedador (Abbas; 2007).

La principal respuesta inmune frente a los protozoarios es la fagocitosis, pero muchos resisten a la fagocitosis matando y replicándose en los macrófagos, algunos protozoarios pueden expresar moléculas de superficie que son reconocidas por los TLRs y activar la fagocitosis (Abbas; 2007).

La segunda línea de defensas, involucra a la respuesta inmune específica, y está mediada por células T. (Green, 2008)

Los parásitos se replican dentro de los fagolisosomas de los macrófagos y son capaces de deprimir las defensas inmunológicas no específicas. El principal mecanismo de defensa contra los protozoarios que sobreviven dentro de los macrófagos, es la inmunidad mediada por células, en particular la activación de macrófagos por las células TH1 (Abbas, 2007).

La resistencia de los caninos a la infección de *L. infantum* se asocia con la proliferación de linfocitos en la sangre periférica. Esta resistencia está asociada con la activación de TH1 CD4+ específicos, que producen INF γ y deriva en la activación de los macrófagos para destruir a los parásitos intracelulares (Abbas, 2007).

Después de la infección se produce una gran cantidad de INF γ , en respuesta a los antígenos, y se produce mayor cantidad de IL 4, que inhiben la activación de los macrófagos por INF γ , (Abbas, 2007).

A la inversa, la activación de células TH2 por los protozoarios resulta en un aumento en la sobrevivencia de los parásitos y exagera las lesiones porque los macrófagos suprimen las acciones de los TH2, citoquinas e IL-4 (Abbas, 2007).

4.10.2. Respuesta inmune en el animal infectado pero clínicamente sano:

La respuesta inmunitaria es compleja, hay muchos linfocitos activados y producción de numerosas citoquinas: como interferon gamma, factor de necrosis tumoral alfa, IL-2, IL-6, IL-10, IL-18 (Chamizo et al, 2005). Existe un predominio marcado de células T con respuesta Th1 (Carrillo y Moreno, 2008). El INF- γ y el TNF- α son las principales citoquinas que activan los macrófagos y causan inactivación de los promastigotes (Carrillo y Moreno, 2008) Los macrófagos infectados, son lisados por el complejo mayor de histocompatibilidad, por las células T citotóxicas CD8+, CD4+, o ambas (Green, 2008), es así que el número aumentado de linfocitos T circulantes CD8+, parecería ser una respuesta característica (Reis et al, 2006).

Después de la infección subclínica, la mayoría de los animales permanecen infectados aunque la carga parasitaria es muy baja. Sin embargo se han detectado animales PCR negativos después de haber estado infectados durante un largo tiempo (Oliva et al, 2006). Los perros resistentes, previamente expuestos al parásito, muestran una disminución en la reacción a la prueba cutánea intradérmica de hipersensibilidad, lo que indica una respuesta mediada por células. Esta reacción está ausente en perros muy sintomáticos, así como también en ellos es deficiente la eliminación intracelular del parásito por parte de los neutrófilos y los monocitos (Green, 2008).

La respuesta inmunitaria de un animal depende de varios factores, pero el principal es el genético, dado que hay estudios que demuestran la marcada susceptibilidad de ciertas razas como por ejemplo el bóxer, pastor alemán, y rottweiler y la resistencia de otras como Pondeco canario. Se han identificado genes asociados a la susceptibilidad y por eso la Unión Europea está investigando este punto en Bóxers y Rottweiler (Fariñas, 2011).

4.10.3. Respuesta inmune del animal infectado, clínicamente enfermo:

La respuesta inmune es mixta Th1 y Th2, con expresión de muchas citoquinas IL-2, IL-6, IL-10, IL-18 TGF- β INF- γ y TNF- α , pero dentro de estas, la producción de INF- γ es baja (Ferrer, 2009).

Hay hiperactividad de las células B que conduce a hipergamaglobulinemia policlonal y a altos títulos de anticuerpos anti-leishmania. Esto se da en todos los perros con leishmaniasis clínica, y esta correlacionado con la misma clínica en sí (Ferrer, 2009).

Varios artículos concluyeron que el principal componente de la respuesta humoral son las IgG2 (Iniesta et, al 2002) sin embargo Quinnell et al (2003) concluyo que hay una sobreproducción de IgG1, IgG3 e IgG4.

Se presenta en la leishmaniasis la formación de inmunocomplejos (ICs) que son causantes de la enfermedad, estos se dan prácticamente en todos los perros con leishmaniasis, los ICs se depositan en vasos de la piel, úvea, articulaciones glomérulos renales, produciendo así inflamación y lesiones tisulares como ser, uveítis, glomerulonefritis, artritis y vasculitis (Green, 2000).

Aunque los mecanismos de formación de los ICs no están claros, se sabe que las IgGs son las más implicadas en la formación de los mismos (Ferrer, 2009).

Se da también en el perro, la formación de autoanticuerpos, como ser anticuerpos anti plaquetarios y anticuerpos anti-histonas (Green, 2008).

Los perros con leishmaniasis, sufren de una inmunodeficiencia, y eso se hace evidente cuando se ve una baja respuesta celular, y frecuentes infecciones sobreagregadas de pseudomonas y staphylococcus junto con demodicosis (Green, 2008).

La producción de linfocitos T CD8+ y CD4+, en los perros sintomáticos, están deprimidos, entonces, no se da la lisis de los macrófagos infectados con leishmania (Green, 2008).

La LV es por lo general crónica, con un comienzo de síntomas desde los 3 meses a los 7 años posteriores a la infección; las regiones de linfocitos T en los órganos linfoides se vacían, y proliferan las células B junto con células plasmáticas, histiocitos y macrófagos, lo que provoca una linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia e hiperglobulinemia, esta respuesta inmune es masiva, y puede llegar incluso a ser perjudicial (Green, 2008).

En los caninos las anomalías más comunes observadas son linfadenomagalia e infecciones de piel. Los perros son el mayor reservorio doméstico para la *L. chagasi* y la piel es el mayor sitio de contaminación para los vectores. Algunos protozoarios usan la apoptosis como un mecanismo de escape inmunitario. Esto explica la sobrevivencia de los parásitos de *Leishmania* spp. en los hospederos, ya que *L. donovani* causa reducción de los linfocitos T CD4+, vía apoptosis (Green, 2008). Este hecho fue comprobado en un estudio realizado en Sao Paulo por Silva et al. (2013), donde usaron 38 caninos con sintomatología y seropositivos a *L. infantum* (*L. chagasi*) mediante ELISA indirecto y como grupo control, 25 caninos sanos seronegativos para *L. chagasi*. Se tomaron muestras de sangre periférica y leucocitos del bazo, para evaluar la apoptosis de las células CD4+ y CD8+. Los autores encontraron que la apoptosis fue mayor en los caninos infectados que en los no infectados y la expresión de FAS y FASL en las células CD4+ fue menor en los caninos infectados. Sin embargo, la expresión de FASL en las células CD8+ fue mayor en los caninos infectados demostrándose que estos receptores están implicados en el proceso de apoptosis responsable de la depleción de los linfocitos en los caninos infectados por *L. chagasi*. Una molécula llamada TRAIL, presente en la piel de caninos con *Leishmania*, sería la que lleva a la apoptosis de los queratinocitos. Las células T CD8+ podrían usar este receptor para inducir la apoptosis o con funciones inmunoregulatoras durante la inflamación. Esta molécula también está relacionada con la apoptosis de las linfocitos T CD8+ memoria, lo que lleva a interferir en la respuesta inmune de los caninos con leishmaniasis crónica. También, usando un modelo experimental en ratones, se comprobó que la ausencia de FASL aumenta la susceptibilidad a la infección. Finalmente, fue demostrado que *Leishmania* spp. y los constituyentes de sus membranas inducen a la apoptosis de los linfocitos in vitro (Silva et al., 2013).

Microscópicamente los nódulos linfáticos presentan linfadenitis crónica, la piel presenta infiltración plasmocítica y focos granulomatosos en la superficie de la dermis. Los perros con LV presentan hipertrofia del sistema mononuclear fagocitario con proliferación de macrófagos que resulta en una linfadenopatía generalizada; en la mayoría de los casos, la infiltración inflamatoria está compuesta de macrófagos, plasmocitos y linfocitos, se presentan en la capsula, subcapsula, región cortical y medular. Además existe hiperplasia en la región cortical, hipertrofia e hiperplasia de los macrófagos de la región medular, congestión, hemosiderosis y presencia de amastigotes adentro de los macrófagos (Green, 2008).

Los nódulos linfáticos de los perros asintomáticos generalmente se encuentran con hiperplasia de la región cortical, mientras que en los perros sintomáticos la región cortical generalmente está atrofiada (Green, 2008).

La piel, mayor fuente de contaminación para los vectores, en los perros sintomáticos presenta linfocitos parasitados, plasmocitos y macrófagos, esta infiltración se da mayormente en perros sintomáticos, mientras que en los asintomáticos está ausente (Green, 2008).

Es sabido que la respuesta predominante en algunos casos de enfermedad avanzada es humoral e involucra citoquinas antiinflamatorias (Green, 2008).

A la observación macroscópica de los nódulos periféricos se detecta que en los perros sintomáticos el volumen de los mismos esta aumentado, con edema, a piel muestra una variedad de lesiones dependiendo del grado de enfermedad clínica, siendo estas de tipo alopecica, desprendimiento de la piel, ulceración y formación de costras, estas más comúnmente en la región de la cabeza llegando incluso a cubrir todo el cuerpo. La inflamación cutánea se refiere más que nada a la dermis superficial y muy raramente involucra a la dermis profunda (Rodríguez et al., 2013).

4.10.4. Evasión inmunitaria por los parásitos:

Los parásitos de *Leishmania*, simulan el desarrollo de células T CD25+, las que suprimen lo suficiente la respuesta inmunitaria, para poder sobrevivir (Green, 2008).

4.11. FISIOPATOLOGÍA

Los neutrófilos son las primeras células que controlan los parásitos en el sito de inoculación por los mosquitos, junto con las células del sistema inmune, como por ejemplo las natural killer (OMS, 2010)

Tanto sea un exceso o un déficit del sistema inmune puede llevar a la presentación crónica de la enfermedad (OMS, 2010).

La infección por *L. infantum* o *L. donovani* implica una hiperplasia del sistema reticuloendotelial que afecta el bazo, el hígado, la mucosa del intestino delgado, la medula ósea, los nódulos linfáticos, y otros tejidos linfáticos, donde se encuentran muchas células parasitadas y la infiltración linfocítica es escasa (OMS, 2010). En el bazo y otros órganos linfáticos se puede ver una atrofia de las áreas paracorticales, pero en el plasma las células linfocíticas son numerosas. El tiempo de vida de los linfocitos y los eritrocitos es reducido causando linfopenia y anemia. La función del hígado puede ser normal o estar alterada pero después la producción de protrombina desciende, lo que junto con la trombocitopenia puede resultar en una hemorragia mucosa importante. La hipoalbuminemia está asociada con el edema. La diarrea puede ocurrir

como resultado de la parasitación intestinal, las úlceras y la enteritis secundaria (Green, 2008).

En una etapa avanzada las infecciones secundarias son muy comunes (Green, 2008).

La activación del sistema de complemento puede contribuir con la anemia, se forman los inmunocomplejos, la médula ósea forma hiperplasia eritroide y cambios eritropoyéticos. Se pueden encontrar dentro de la médula ósea macrófagos, neutrófilos y eosinófilos (Green, 2008).

4.12. SINTOMAS

Según Ferrer (2009), la leishmaniasis se puede dividir en cuatro estadios clínicos bien distintos:

- Estadio 1: enfermedad leve, con mínimas alteraciones clínico-patológicas. El título serológico es bajo y no presenta enfermedad renal.
- Estadio 2: enfermedad moderada, con signos clínico patológicos y mínimo daño renal
- Estadio 3: enfermedad grave, con marcados signos clínico-patológicos y enfermedad renal.
- Estadio 4: enfermedad muy grave, irreversible, con daño e insuficiencia renal grave.

4.12.1. Caninos

La LV es una enfermedad sistémica y crónica, en la cual los signos son variables y suelen comenzar con una depresión, progresiva e intolerancia al ejercicio, a lo que le sigue pérdida de peso y atrofia muscular. Algunos perros pierden peso, a pesar de tener un apetito voraz (Green, 2008).

La reducción de la actividad física está relacionada con trastornos locomotores causados por neuralgia, poliartritis, polimiositis, úlceras interdigitales, lesiones osteolíticas y osteoartrosicas o periostitis proliferativa (Green, 2008).

Entre el 56% y el 90% de los perros con LV sintomática presentan lesiones dérmicas, sin otros signos de enfermedad, pero debería presumirse que en ellos también existe una enfermedad visceral dado que los parásitos se diseminan por el cuerpo antes de que se desarrollen las lesiones cutáneas (Green, 2008)

Los trastornos dermatológicos, por lo general se presentan como alopecias, apruríticas, y de distribución simétrica, con dermatitis exfoliativa y descamación; generalmente comienzan por la cabeza y se extienden al resto del cuerpo. Algunos animales pueden presentar ulceración de la nariz y pabellón auricular o resquebrajamiento del hocico y almohadillas pódalas. Con menor frecuencia

desarrollan úlceras mucocutáneas, nódulos cutáneos, nódulos mucosos o erupciones pustulares (Green, 2008).

Con frecuencia se presenta linfadenomegalia de los ganglios linfáticos superficiales y esplenomegalia. Hasta el 40% de los perros diagnosticados, presentan lesiones oculares como queratoconjuntivitis y uveítis granulomatosa o linfoplasmocítica, y aunque no es un signo clínico común, si es bastante específico el hallazgo de las uñas muy largas y quebradizas (onicogrifosis) (Green, 2008).

La epistaxis también puede estar presente, esto es debido a la presencia de úlceras nasales (Figura 6) y a la paraglobulinemia, que puede interferir con la polimerización de la fibrina, y que en asociación con la uremia puede inhibir la función de los trombocitos. Además puede desarrollarse trombocitopenia como resultado de los autoanticuerpos, los CIC y al rebalsamiento esplénico o supresión de la médula ósea (Green, 2008).

La anemia suele ser una secuela de la reducción de la eritropoyesis en la enfermedad crónica, o de la falla renal, pero puede verse agravada por la pérdida de sangre, o la destrucción inmunológica de los eritrocitos (Green, 2008).

La inmunosupresión puede verse reflejada en la aparición de enfermedades concomitantes como ser demodicosis, piodermia, enfermedad gastrointestinal y neumonía, lo que complica aún más el cuadro ya existente. Son comunes las infecciones combinadas con *Ehrlichia*, *Babesia*, *Hepatozoon*, *Trypanosoma* y *Dirofilaria* cuando se presenta LV en regiones donde estos organismos son endémicos (Green, 2008).

La falla renal suele ser un signo de empeoramiento de la enfermedad, que puede estar acompañada por anorexia, depresión mental, poliuria, polidipsia, vómitos y diarrea temporal. La falla renal puede ser el único trastorno evidente en perros con LV por eso, animales que sufren este trastorno y viven en zonas endémicas deberán ser evaluados por leishmaniasis (Green, 2008).

Se ha presentado trombosis, como consecuencia de un síndrome nefrótico causado por glomerulonefritis, así como también signos de CID (Green, 2008).

Otras manifestaciones menos frecuentes incluyen: tamponamiento pericardio, colitis crónica y pénfigo; que pueden deberse a enfermedades concomitantes. Existe un incremento en la relación entre leishmania en caninos, y neoplasia linfóide o hemangiosarcoma (Green, 2000).

En un estudio realizado en Colombia por Romero et al. (2008) los signos clínicos presentados con mayor frecuencia fueron: onicogrifosis (36,4%), caquexia (26,9%), y alopecia (23,1%).

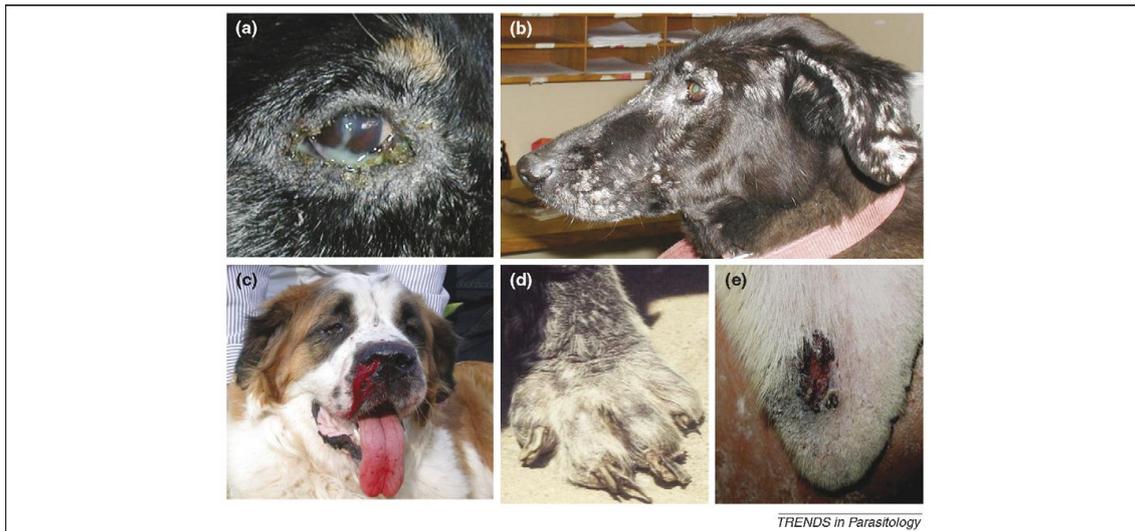


Figura 6: Manifestaciones clínicas de la Leishmaniasis canina sintomática. Baneth et al., 2009.

4.12.2. Felinos:

El primer estudio realizado en felinos fue en 1912, en Alegría (África) en un gato de cuatro meses de edad, que perteneció a un niño afectado de LV, encontrándose amastigotes de leishmania en la medula ósea del gato (Green, 2000).

De acuerdo a resultados obtenidos en recientes investigaciones, se puede concluir que los gatos, no representan importancia significativa en la cadena epidemiológica de la LV, al compararse con la especie canina, estos rara vez se afectan clínicamente, incluso cuando son seropositivos, aunque en una región endémica de Venezuela se hallaron felinos con lesiones nodulares en la nariz y orejas (Velázquez et al., 2011).

En el sur de Texas, se diagnosticó un gato con lesiones cutáneas nodulares en la oreja causada por *L. mexicana*, y dos años después de la amputación de estos nódulos, volvieron las lesiones en el sitio quirúrgico, el hocico y la mucosa nasal (Green, 2008).

La enfermedad se diagnostica más en felinos de pelo corto, en un rango entre los 3 y 5 años, siendo la prevalencia mayor en las hembras, aunque según otros autores la prevalencia es mayor en gatos machos mayores a 5 años (Velázquez et al., 2011).

Tras estudios experimentales se determinó que los gatos son resistentes a la infección con la cepa Kenya de *L. donovani*. (Green, 2000). Y según un estudio realizado por Peloi en una zona endémica de Sao Paulo, los gatos son mayormente asintomáticos, lo que llevaría a complicar aún más el diagnóstico, y a diferencia con los caninos, ellos utilizan más que nada las respuestas

humorales, mientras que los felinos tienen alta resistencia natural debido más que nada a una respuesta mayoritariamente celular (Peloi et al., 2011).

En Estados Unidos, se describieron casos de LC en felinos producida por *L. mexicana*, mientras que en América Latina, principalmente en Brasil además de *L. infantum*, se han encontrado casos de LC en gatos producidos por *L. braziliensis* y *L. amazonensis* (Peloi et al., 2011).

Existen estudios que demostraron que hay una asociación entre la serología positiva de anticuerpos anti- *Leishmania* y los signos clínicos de leishmaniasis felina. Así como también entre el virus de inmunodeficiencia felina, y la leishmaniasis, se cree que las enfermedades concomitantes en los gatos predisponen a la infección por leishmania (Velázquez et al., 2011).

Los síntomas clínicos predominantes son lesiones cutáneas como úlceras y dermatitis ulcerativa, alopecia, nódulos únicos o múltiples, que pueden ser ulcerados, quistes hemorrágicos, dermatitis escamosa y costrosa, seborrea y prurito; entre los síntomas sistémicos se ha encontrado linfadenomegalia, lesiones oculares, anorexia, pérdida de peso, estomatitis, letargo, deshidratación, vómitos, mucosas pálidas, fiebre, hepato- esplenomegalia, ictericia, aborto recurrente y disnea. Las alteraciones hematológicas, detectadas fueron: neutrofilia, linfopenia, pancitopenia, eosinofilia, linfocitosis, monocitosis, anemia, hiperglobulinemia, gammapatía, hiperproteinemia (Velázquez et al., 2011) (Figura 7).



Figura 7: Manifestaciones clínicas en felinos. Vides et al., 2011.

En Paraguay, la seroprevalencia de LV felina, es del 0,94%, sin embargo en Irán, la prevalencia es del 25%, utilizando la prueba de IFI y Aglutinación directa, y en un estudio realizado recientemente en Brasil, con el método de ELISA se determinó una prevalencia del 14,5% en gatos provenientes de un área endémica de Araçatuba- Sao Paulo (Peloi et al., 2011).

Por lo pronto, hasta el momento existe discordancia en la literatura de el papel que juegan los gatos en la participación de esta zoonosis, según

investigaciones recientes realizadas en Paraguay, se los podría considerar como un reservorio alternativo de *L. infantum*, más que como un reservorio accidental, y se deberían realizar mayores estudios para determinar su papel epidemiológico (Velázquez et al., 2011).

4.13. DIAGNOSTICO

4.13.1. Hallazgos de laboratorio

Los hallazgos más comunes en el suero de perros con LV clínica son la hiperproteinemia con hiperglobulinemia e hipoalbuminemia marcada sin causa aparente, la elevación leve en las enzimas hepáticas es frecuente, pero rara vez se encuentra un incremento marcado, azoemia grave o ambos. En la mayoría de los casos se desarrolla proteinuria y algunos síntomas renales progresivos, luego aparece falla renal causada por la glomerulonefritis dada por el complejo inmune (Green, 2008).

Con frecuencia suele detectarse anemia no regenerativa, de leve a moderada, que puede llegar a ser hemolítica, inmunomediada (Green, 2008).

Los hallazgos menos frecuentes incluyen: trombocitopenia, leucocitosis leve o leucopenia, aunque la linfopenia es frecuente en perros con LV (Green, 2008).

El diagnostico definitivo se realiza por la observación microscópica de parásitos en los preparados citológicos, histopatológicos, serología, cultivo del organismo en medios adecuados o detección del ADN del parásito por medios moleculares (Green, 2008).

4.13.2. Pruebas serológicas

En la actualidad se utilizan varios métodos serológicos para la detección de anticuerpos anti leishmania en suero, tales como la prueba indirecta de anticuerpo fluorescente, ELISA, aglutinación directa y western blotting. Para la detección de LV en caninos y humanos se utiliza un antígeno recombinante purificado, rK39 mediante ELISA (Green, 2008). Este test, consiste en utilizar el antígeno Kr39, del complejo *L. donovani*, para buscar anticuerpos contra *Leishmania*. Tiene como ventaja que es sencillo de aplicar, no se requieren técnicos especializados y no es una técnica invasiva. El mismo, fue evaluado por un estudio realizado por Dourado en Brasil, resultando la sensibilidad de un 100% y la especificidad de un 98% en comparación con el examen parasitológico directo (Dourado et al., 2005).

Generalmente estos métodos cuentan con una sensibilidad y especificidad elevada para el diagnostico de LV, dado que en los perros los anticuerpos se presentan antes que los síntomas clínicos. Los caninos asintomáticos que de a

poco van mostrando el desarrollo de la enfermedad suelen ser seropositivos, aunque un título positivo bajo suele detectarse en animales que han sido expuestos pero no desarrollaron la patología, o en los portadores asintomáticos permanentes (Green, 2008)

Según Green (2008), en los perros con signos clínicos, el diagnóstico de serología positiva es un diagnóstico preliminar contundente dado que los anticuerpos en estos animales muy rara vez son indetectables.

Pero según el estudio de Romero realizado en Colombia utilizando las pruebas de ELISA e IFD, concluyeron que se estarían realizando sacrificios innecesarios de caninos que son Falsos Positivos y que no se estarían detectando una proporción de animales que son fuente de infección para la población canina y humana (Romero et al. 2008).

La conclusión de este estudio determina que la capacidad de la prueba de IFD y ELISA para detectar animales oligosintomáticos y asintomáticos es mayor que para la detección de animales polisintomáticos dado que estos últimos sufren una inmunodepresión y por lo tanto la producción de anticuerpos anti-*Leishmania* estaría deprimida (Romero et al. 2008).

En aquellos casos que la serología no es concluyente se recomiendan realizar métodos adicionales de detección (Green, 2008).

La reacción cruzada con otros patógenos resulta ser un verdadero problema en lugares en que *Trypanosoma* spp es frecuente como por ejemplo América del Norte y América del Sur, donde el *Trypanosoma cruzi* es un patógeno frecuente en caninos domésticos y salvajes (Green, 2008), sin embargo según Romero y col, con la prueba TESA blot, que contiene antígenos específicos de trypomastigotes, se puede determinar con alta sensibilidad los casos de enfermedad del Chagas crónica, aguda y congénita (Romero et al. 2008).

4.13.3. PCR

La técnica de PCR y sus variantes, son técnicas de alta sensibilidad y especificidad para la detección de ADN de leishmania en caninos infectados (Reis et al., 2013) y han mejorado mucho en los últimos años sin embargo no nos sirven para diagnosticar la enfermedad por lo cual siempre deben valorarse los datos clínicos y clínicos- patológicos (Ferrer, 2009).

Un estudio realizado en Sao Pablo, por Reis et al., compara las diferentes variantes de esta técnica para determinar cuál es la más sensible y específica para diagnosticar este ADN, comparando al cPCR (PCR convencional), snPCR (seminested PCR) y qPCR (PCR cuantitativo) en muestras de piel y bazo de 60 perros seropositivos a inmunofluorescencia. También se llevó a cabo el análisis parasitológico mediante el aspirado de médula ósea y microscopía óptica de muestras de piel de la oreja, el que reveló parásitos en el 61,7% de

las muestras siendo la sensibilidad resultante de las muestras extraídas de piel: cPCR 89,2% snPCR 85,5% y qPCR 97,3%, mientras que la sensibilidad de los aspirados de bazo 81,1%, 94,6% y 100% respectivamente. Lo que demuestra que la técnica de qPCR es la mejor para detectar *L. infantum* en tanto sea en muestras de piel, como de bazo. Por lo tanto, se recomienda la biopsia de piel y el uso de qPCR dado que tiene alta sensibilidad y es el método menos invasivo (Reis et al., 2013). Sin embargo estas técnicas no están disponibles en Uruguay hasta el momento (Scavone, 2013).

4.13.4. Real time PCR

Es una técnica cuantitativa, que permite cuantificar de forma relativa la cantidad de parásitos en una muestra determinada. Esta técnica no debería usarse aislada, sin embargo es muy útil para confirmar la infección y hacer el seguimiento de un tratamiento, evaluar las posibles recidivas de animales controlados que expresen altas cargas parasitarias en un determinado momento ya que es una técnica de elevada sensibilidad. Por ejemplo, los perros con enfermedad clínicamente notoria presentan más de 10 a la 3 parásitos por ml, las cargas parasitarias muy bajas (menos de 100 parásitos por ml) son sugestivos de infección sin enfermedad (Ferrer, 2009)

En el caso de obtener un canino clínicamente sano, pero serológicamente positivo, debemos determinar el título de anticuerpos, si los mismos son muy elevados, es diagnóstico de enfermedad y debería considerarse monitorizar al paciente e iniciar una terapia. Si los títulos fueran medios o bajos, serían indicativos de infección y los animales deberían evaluarse por completo a futuro, en aproximadamente tres meses. Mientras tanto sería recomendable utilizar en estos animales insecticidas repelentes de uso tópico (Ferrer, 2009)

4.13.5. Estudios parasitológicos

Estos métodos demuestran la presencia del parásito en la lesión, e incluyen: el frotis, el cultivo y la histopatología. Estos métodos diagnostican la forma amastigota en la lesión y la promastigota en el cultivo (Lorenz, 2008).

4.13.5.1. Frotis: consiste en el raspado con una hoja de bisturí, de la lesión cutánea, que se extiende en porta-objetos, se tiñe con Giemsa al 2%, o May Grunwalds 50%- Giemsa 10% y se observa al microscopio óptico. Mediante este método diagnosticamos la forma amastigota de la lesión, es un método rápido y tiene una sensibilidad del 60% (Lorenz, 2008) (Figura 8).

4.13.5.2. Cultivo: se realiza en un medio NNN (Novi Nral Nicolle- medio bifásico) con material que se obtiene de la lesión por aspirado o por biopsia. Este método permite identificar la cepa en unas dos semanas (Lorenz, 2008).

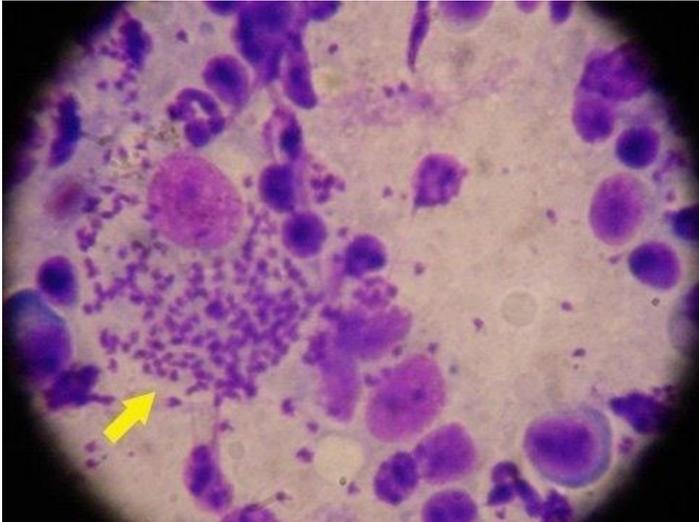


Figura 8: Amastigotes en frotis realizado después de una punción aspiración en clínica. Fuente OMS, 2010.

4.13.5.3. *Histopatología:* Se realiza mediante una escisión en el borde de una lesión cutánea preferentemente reciente involucrando piel enferma y sana y se observa a MO un granuloma inflamatorio constituido por histiocitos, linfocitos, células epiteliales gigantes, algunos polimorfonucleares y plasmocitos. Los parásitos se observan dentro de los histiocitos con Giemsa. El problema de esta técnica es que en las lesiones recientes los parásitos son abundantes pero en las lesiones que son de larga data no es tan así, por eso mismo es que esta técnica tiene baja sensibilidad (Lorenz, 2008) (Figura 9).



Figura 9: Amastigotes fagocitados. Fuente OMS, 2010.

4.13.6. Otros test:

Existen ciertos test que valoran la respuesta inmunitaria frente a los parásitos de *Leishmania*:

1. Inmunodermoreacción con leishmania (respuesta T)
2. Test de proliferación de linfocitos T.
3. Mediciones de citoquinas (Interferon gamma e interleucina 4)

Estos test, por el momento no están a disposición de los clínicos, y son test destinados a la investigación.

Actualmente, se presenta la propuesta de Solano –Gallego et al. (2009) relacionada a los pasos a seguir para el diagnóstico correcto de la enfermedad (Figura 10).

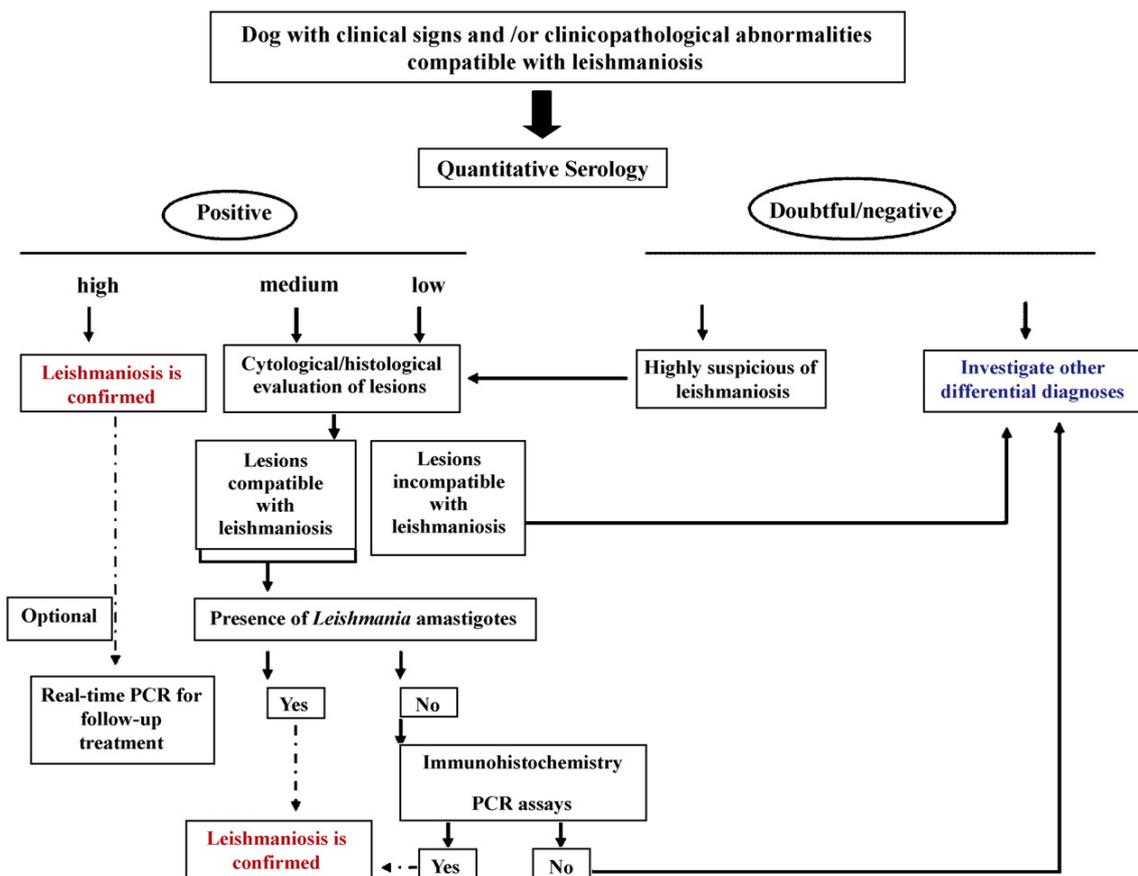


Figura 10: Aproximación al diagnóstico de perros con signos clínicos y/o patológicos compatibles con leishmaniasis. Solano –Gallego et al., 2009

4.14. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Se producen problemas en el diagnóstico de leishmaniasis canina cuando los signos clínicos presentes son comunes a otras enfermedades, cuando nos encontramos en una zona endémica donde el porcentaje de infectados es muy elevado o cuando los análisis de rutina no son característicos de una u otra enfermedad y por estos motivos debemos realizar un diagnóstico diferencial (Ferrer, 2009)

Los problemas en el diagnóstico se pueden dar cuando sospechamos de las siguientes enfermedades:

- Dermatitis dependiente de Zn: causa una dermatosis exfoliativa – costrosa facial y de las extremidades
- Lupus eritematoso discoide: causa una dermatosis erosiva ulcerativa de la trufa
- Adenitis sebácea granulomatosa idiopática, que produce una dermatosis con hipotricosis.

En la Dermatitis dependiente del Zn, el Zn no se absorbe correctamente, esta patología se da más que nada en razas nórdicas, y en animales jóvenes; causa una dermatosis exfoliativa costrosa facial (en la zona periocular, en los pabellones auriculares y en las extremidades) sin embargo, en esta no suele presentarse hipergamaglobulinemia y al contrario de la leishmaniasis esta no causa otros signos clínicos evidentes, aunque puede presentarse con linfadenopatía moderada y a veces puede presentarse piodermia secundaria (Ferrer, 2009).

El lupus eritematoso discoide es la segunda enfermedad autoinmune más común en el perro, se da frecuentemente en las razas dolicocefálicas como el Pastor Alemán y el Collie, donde aparece una notable despigmentación y pérdida de la arquitectura de la nariz, con erosiones, úlceras y costras que empeoran con la exposición a la luz solar. El proteinograma es similar en ambas enfermedades, ya que presentan ambas hiperproteinemia con aumento de la beta y gamma globulinas, aunque en la leishmaniasis este aumento es más intenso. La histopatología de las lesiones en ambas, son similares, hay una dermatitis en la unión dermoepitelial, rica en células. Además del problema diagnóstico; el tratamiento es muy distinto, dado que en el lupus eritematoso discoide el tratamiento indicado sería la terapia inmunosupresora con corticoides, lo cual está contraindicado en la leishmaniasis. El diferencial podría realizarse por inmunohistoquímica o por PCR, de una biopsia, que revelaría la presencia de amastigotes de leishmania en la zona lesional granulomatosa (Ferrer, 2009).

La Adenitis sebácea granulomatosa idiopática es poco frecuente en los perros y muy rara en los gatos. En ella se sospecha que se produce una destrucción inmunomediada de las glándulas sebáceas que puede ser primaria o secundaria. Afecta en mayor medida a adultos jóvenes o maduros de ambos sexos y se da más que nada en las razas Akitas, Pastores Belga, y Pudels gigantes y el cuadro clínico varía en las distintas razas. En los Akitas causa alopecias, piel grasa, pápulas, descamación, material queratosebáceo amarillento con cilindros. Sin embargo en el Pudel gigante causa pelo seco y mate, descamación y cilindros foliculares. A la histopatología se observa dermatitis perivascular con hiperqueratosis, queratosis, fibrosis y atrofia folicular y en los casos crónicos ausencia de glándulas sebáceas. A diferencia de la leishmaniasis en esta no se da un cuadro sistémico, ni una linfadenopatía, y el curso de esta enfermedad es leve; pero la histopatología es muy similar ya que en la leishmaniasis se suele presentar una adenitis sebácea granulomatosa (Ferrer, 2009).

4.15. TRATAMIENTO

La leishmaniasis canina, es más resistente al tratamiento que la humana, y solo en algunas ocasiones logran alcanzar la cura de la enfermedad (Green, 2008).

Hasta el momento, no existen drogas 100% efectivas para el tratamiento, por lo que generalmente no se llega a la “curación parasitológica” de la enfermedad, con lo cual se complica el diagnóstico y se producen recaídas que generalmente se originan por situaciones de estrés que llevan a la inmunosupresión (Miro, 2011).

Los principales fármacos para el tratamiento tanto de la leishmaniasis canina como de la humana son los antimonios pentavalentes, los cuales inhiben de forma selectiva las enzimas protozoarias necesarias para la oxidación glucolítica y de los ácidos grasos. Estos deben inyectarse a diario y pueden ocasionar serios efectos secundarios. Las vías de administración pueden ser IM, SC, o IV. El uso de la vía IM, puede causar claudicación grave como resultado de la fibrosis muscular. Las inyecciones IV pueden causar tromboflebitis y por lo tanto trombosis. Las complicaciones del uso de la vía SC son menos graves, puede ocasionar una inflamación local (Green, 2008)

Una alternativa podría ser el uso de Alopurinol, que es un compuesto de hipoxantina, que la *Leishmania spp* metaboliza para producir un análogo de la inosina. El análogo, luego se incorpora en el ARN del parásito y provoca una traducción proteica errónea que inhibe su multiplicación (Green, 2008).

El Alopurinol es más económico y se puede administrar vía oral. Presenta menos efectos secundarios, y se puede acceder a él con más facilidad. Su uso causa hiperxantinuria lo que puede llegar a provocar urolitiasis (Green, 2008).

Una dosis de 20 mg/kg diarios ocasionan una mejoría notable en aproximadamente cuatro semanas. La mejoría clínica, generalmente se obtiene con el uso solo de Alopurinol, sin embargo las recaídas son frecuentes, ya que la recuperación completa es muy rara (Green, 2008).

Cuando se comienza un tratamiento con antimonios pentavalentes después se puede combinar con Alopurinol, y se puede seguir con este por tiempo indeterminado (Green, 2008).

Según la Universidad Autónoma de Buenos Aires, el tratamiento de la enfermedad depende del estadio en que se encuentre.

- Estadio 1: no se recomienda el tratamiento, o podría tratarse solo con Alopurinol.
- Estadio 2: sería recomendable el tratamiento con Alopurinol y con Glucantime.
- Estadio 3: Glucantime y Alopurinol, y control de la enfermedad renal.
- Estadio 4: Control de la enfermedad renal.

Las dosis recomendables de Glucantime y Alopurinol son las siguientes:

1. Glucantime 100 mg/kg/24 hs, o mejor 50 mg/kg/12 hs, por cuatro semanas
2. Alopurinol 10 mg/kg/12 hs, por toda la vida, o por lo menos por un año.

Otra opción recomendada sería el uso de la miltefosina que es leishmanicida, en combinación con el Alopurinol que es leishmanioestático por excelencia y es bastante inocuo (Miro, 2011).

La miltefosina se debe usar a una dosis de 2 mg/kg, durante 4 semanas, administrado siempre con la comida. No es recomendable usar en perros con problemas gástricos o pérdida del apetito, pero si es la primera opción de tratamiento en perros con proteinuria y/o enfermedad renal (Miro, 2011).

Además del tratamiento, sería recomendable la prevención y el control de las enfermedades secundarias y una correcta alimentación (Ferrer, 2009).

El seguimiento de los pacientes incluye controles en los meses: 1, 2, 3, 6 y 12, y después dos revisiones anuales.

En cada revisión hay que realizar:

- Examen clínico completo
- Proteínas totales y Proteinograma
- Serología
- Bioquímica y uroanálisis
- Hematología.

La mejoría clínica de los perros varía según el tratamiento, dependiendo del estado clínico previo. La misma se puede observar entre el primer y el tercer mes de tratamiento aunque los perros con grave daño renal tendrán una peor recuperación clínica. Se aconsejara la interrupción del Alopurinol cuando se haya llegado a la mejoría clínica de forma completa, y cuando los niveles de anticuerpos sean negativos o levemente positivos (Miro, 2011).

Según un estudio realizado en Colombia en el 2007, por Romero, el tratamiento de los perros infectados no es práctico, dado que su costo es alto y consigue bajas tasas de recuperación. Por otro lado, las vacunas hasta el momento no son eficientes, por lo tanto se plantean otras medidas de control, como el uso de collares impregnados con deltametrina los cuales reducen el numero de mosquitos que se alimentan sobre los perros (Romero, 2007).

4.16. PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención de la LCan depende de lograr identificar los factores de riesgo para poder controlarlos. Los mismos están relacionados con la temporada de transmisión de mosquitos, la densidad del vector, la susceptibilidad de la población canina presente, el comportamiento de los caninos, el grado de exposición de estos a los vectores (por ejemplo el hecho de dormir adentro de la casa o cerca de gallineros) y la actitud de los dueños hacia la prevención de esta zoonosis (Coura-Vital et al., 2013).

Según un estudio realizado por Coura-Vital (2013) en Brasil, acerca de la prevención de la LCan, las técnicas moleculares (PCR y PCR- RFLP) son más precoces que las técnicas serológicas por anticuerpos ya que demuestran la presencia de ADN protozario en los caninos. Este tipo de técnicas son de alto valor ya que podrían llevar tomar medidas de control anterioridad, dado que la seroconversión en animales naturalmente infectados llevaría aproximadamente 10,5 meses (Coura-Vital et al., 2013).

Otra ventaja de aplicar estas técnicas moleculares, seria que las muestras pueden ser tomadas de una amplia gama de tejidos y aunque la sangre periférica no sea una de las más efectivas, es la mayormente usada para muestreos masivos, ya que al mismo momento se pueden realizar pruebas

serológicas, permitiendo así la detección de la mayoría de los infectados (Coura-Vital et al., 2013).

Dado que esta enfermedad es grave y de difícil tratamiento, todas las medidas posibles para prevenirla deben ser tomadas. Según Ferrer, los enormes avances de los últimos años en cuanto a la investigación de esta enfermedad, ya sea en su biología e inmunología han logrado el desarrollo de vacunas eficaces y seguras, lo cual cambiarían la estrategia de su control (Ferrer, 2011).

Pero es más difícil obtener una vacuna eficaz en caninos dado que los mismos son mucho más susceptibles que los humanos (Figuereido, 2013).

Actualmente, las vacunas en caninos, son más fáciles de licenciar, y el nivel de exigencia es menor que para las vacunas humanas, por lo tanto, en Brasil, actualmente existen vacunas disponibles para caninos, pero su eficacia no ha sido comprobada, dado que no está comprobado que impida que los caninos sigan actuando como fuente de infección para el vector, ya que no se realizaron hasta el momento xenodiagnósticos que lo prueben, no existen estudios que demuestren el efecto terapéutico de la vacuna, y no hay estudios realizados que demuestren la protección al canino contra la infección natural (Figuereido, 2013).

Aparte de lo anteriormente expuesto, los caninos vacunados, generan falsos positivos, al momento de ser diagnosticados, dado que no existen test diagnósticos hasta la fecha que los diferencie, de los no vacunados. También cabe señalar que los perros vacunados, podrían permanecer por más tiempo en el área endémica y ser fuente de infección para el vector. Según la experiencia del Dr. Figueredo, hasta el momento las vacunas actuales, no tienen el porcentaje de protección adecuado, dado que se han encontrado varios caninos correctamente vacunados, con altas cargas parasitarias los cuales pueden seguir siendo fuente de infección para otros flebótomos (Figuereido, 2013).

Las vacunas disponibles hasta la fecha, no son eficaces para interrumpir la transmisión del agente y podrían llegar a interferir en el diagnóstico de perros infectados, por lo que la OPS, desaconseja su utilización, hasta que surjan nuevos estudios y se evalúen por los organismos competentes. Así mismo la OPS aconseja el sacrificio humanitario de los caninos infectados y el control selectivo del vector en las aéreas de mayor riesgo de transmisión, acompañado por el diagnóstico precoz y el tratamiento de personas afectadas, para disminuir el número de casos y consecuencias (OPS, 2011).

Hay evidencias de que los tratamientos farmacológicos en los perros afectados de LV, no son eficaces para reducir la condición de infectivos de los mismos y aumentan el riesgo de generación de cepas resistentes a los medicamentos de uso humano, por lo tanto, según la OPS, es necesario prohibir los tratamientos de LV canina con medicación de uso humano, y establecer medidas para prevenir la importación de perros de países en los que esta práctica sea aplicada.

La protección parcial, que generan los collares y los productos spot-on, no garantiza la interrupción del ciclo en perros con o sin tratamiento.

La coordinación entre países es requerida, para lograr los mejores métodos diagnósticos, de intervención y vigilancia, posibles. Por lo que se sugiere la coordinación mediante el MERCOSUR, para la aplicación de medidas conjuntas de vigilancia y control de la LV

Por lo tanto, debemos instrumentar políticas de tenencia responsable de mascotas, y así reducir el abandono creciente de caninos en la vía pública, y nosotros como veterinarios, debemos participar en campañas de castración y de educación para la población en esta materia.

Las acciones conjuntas entre países, destinadas al control del tránsito y otras mascotas, es necesaria (OPS/OMS 2010).

4.16.1. Medidas de control:

Desde hace 40 años, las medidas de control realizadas en Brasil, se basaban básicamente en:

- A) Distribución gratuita de medicación para humanos: Anti-amonios pentavalentes a una dosis de 20 mg/kg/día, por 20 días.
- B) Control de reservorios domésticos: Usando test de seroprevalencia en caninos y a los resultantes positivos se les realizaba eutanasia.
- C) Control de vectores: Generalmente mediante aspersion en el ambiente de insecticidas, de forma eventual.

El hecho de que la incidencia de leishmaniasis aumente, generándose epidemias inclusive en áreas urbanas, lleva a que Brasil en el 2001 considere cambiar este plan de control, dado que no se estarían alcanzando los objetivos planteados. Por lo tanto se plantea que el tratamiento en humanos deberá aplicarse por un mínimo de 30 días, se recomienda también el uso de anfoteracina B, en pacientes con falla renal y en mujeres embarazadas, ya que ésta es más segura y se excreta mayoritariamente por vía extra-renal (Neri-Furtado, 2001).

El programa de eliminación de caninos seropositivos, es el que menos apoyo científico y técnico tiene, dado que: A) No existe correlación entre los casos de LV en humanos y los caninos seropositivos. B) La ausencia de riesgo significativo para los humanos por el hecho de convivir con un canino con *Leishmania*. C) La demostración teórica de que no ha disminuido la prevalencia de casos en humanos, a pesar de que esta medida sea tomada, ya que es poco eficiente en comparación con el control vectorial y la suplementación alimenticia sobre todo a niños malnutridos. D) El hecho de que ha sido comprobada la presencia de otros reservorios como caninos silvestres, marsupiales y personas, sobre todo niños malnutridos que pueden ser fuente de transmisión para otras personas. E) El porcentaje de reposición de la población canina es muy alto, por lo cual hace que las medidas de eutanasia sean impracticables. F) La baja eficiencia de los test serológicos para diagnosticar caninos positivos. G) La falta de indicadores clínicos y laboratoriales para diagnosticar los caninos y los vectores. H) La ausencia de evidencia que indique que utilizando únicamente la eutanasia se puede llegar a controlar esta zoonosis sin tomar en cuenta el control vectorial. I) Existen publicaciones que demuestran que usando únicamente el sacrificio de caninos con *Leishmania*, no se reduce la incidencia de LV humana (Neri- Furtado, 2001).

Por lo tanto, asesores del Ministerio de Salud de Brasil recomiendan que se levanten estas medidas de sacrificio de caninos seropositivos. Ellos plantean que en los lugares en los cuales no existe LV humana, ni vectores, pero sí caninos infectados, deberían tomarse medidas de vigilancia y educación para la población. También expresan que se deberían aumentar las medidas de identificación y control vectorial, así como el seguimiento serológico de los caninos con *Leishmania*. Los mismos consideran que el sacrificio de caninos debería estar restringido únicamente a aquellos que presenten diagnóstico definitivo mediante confirmación parasitológica, o aquellos positivos a los test serológicos, pero provenientes de áreas endémicas (Neri- Furtado, 2001).

Existen numerosos ensayos que muestran que el control de las enfermedades zoonóticas producidas por vectores puede ser controlado mediante el uso de insecticidas, recomendado para aquellas zonas donde exista transmisión de LV humana. Inclusive cuando existan casos de LV humana, el control mediante el uso de insecticidas será recomendado cuando se cumplan alguna de las siguientes: 1) Introducción reciente de la enfermedad. 2) Incremento marcado de la incidencia. 3) Que existan más de 5 casos por cada 100.000/año. Por lo tanto cuando ninguna de las citadas se cumpla, los expertos recomiendan que se intensifiquen las medidas de investigación de nuevos casos humanos, el entrenamiento de los profesionales de la salud para la rápida detección de casos y la amplificación de medidas de control vectorial. Dado que los niños malnutridos están en mayor riesgo de manifestar síntomas de LV, se

recomienda que se les suplemente con comida para evitar el riesgo de que contraigan la enfermedad (Neri- Furtado, 2001).

El uso de tela mosquitero en casas de zonas endémicas constituye una muy buena medida de prevención, su medida deberá ser entre 0,3 y 0,4 mm, preferentemente tratados con piretroides sintéticos residuales, como deltametrin y permetrin (Miro, 2007).

4.16.2. El uso tópico de insecticidas repelentes:

El uso de piretroides, principalmente deltametrina y permetrina, disminuyen la incidencia de la enfermedad. Éstos, aplicados por vía tópica, evitan la succión de sangre por parte de los flebótomos. Las presentaciones de los insecticidas son en forma de collar, “spot on” y aerosoles (Ferrer, 2011).

Los collares, permiten la liberación lenta del insecticida y, disminuyen en 80% las picaduras de los flebótomos. Su protección comienza después de una semana de colocado y puede durar hasta 34 semanas. Según un estudio realizado en Italia, se demostró que el uso de collares durante dos estaciones consecutivas, reduce en 86% la infección por *L. infantum* y un estudio realizado en Irán, demostró que no sólo disminuye la prevalencia de la leishmaniasis canina, sino que también disminuye la prevalencia de leishmaniasis humana (Ferrer, 2011).

Los de presentación “spot on”, generalmente contienen permetrinas solas o en combinación con imidacloprid. u duración es de 3 a 4 semanas, pero su uso regular ha demostrado una reducción de los casos en un 90% (Ferrer, 2011).

La presentación en aerosol, confiere una protección inmediata, sin embargo, la misma es de corta duración y no hay suficientes estudios que demuestren su eficacia (Ferrer, 2011).

Cabe destacar que la protección que brindan estos productos no es 100% eficaz y en zonas donde la leishmaniasis es endémica, los collares con deltametrina deben aplicarse al comienzo de la temporada de los flebótomos y los “spot on” cada cuatro semanas. Aún así cabe aclarar que la protección es individual (Ferrer, 2011).

4.16.2. El sacrificio de los caninos con *Leishmania*:

En Brasil, el control de la leishmaniasis mediante el sacrificio de los caninos comenzó en 1953, en el estado de Ceará donde se eliminaban los perros con serología positiva, y en esa fecha sólo un perro fue eutanasiado, pero entre 1954 y 1955 el número aumentó a 42, y en 1960 fueron más de 2000 los perros eutanasiados. A pesar de esta medida no se ha notado una gran disminución en los casos de leishmaniasis humana (Costa, 2011) por lo que hoy es cuestionable.

Existen alternativas bastante prometedoras para el control de la leishmaniasis sin ser las tradicionales (uso de insecticidas) (Costa, 2011). Al día de hoy, existen estudios prometedores en relación al uso de vacunas contra la leishmaniasis. Teniendo en cuenta que la enfermedad produce inmunidad (son raros los casos de recidiva o reinfección de la enfermedad en individuos inmunocompetentes) es posible que la producción de vacunas eficaces utilizando antígenos recombinantes puedan ser usadas en el futuro.

4.17. CONCLUSIONES FINALES:

En base a lo estudiado para la realización de esta tesis, se puede concluir que Uruguay, debería implementar las medidas necesarias para prevenir esta zoonosis mediante el monitoreamiento de vectores durante todo el año usando trampas de luz CDC para poder evaluar la actividad anual de los mismos, así como también realizar el TRL a todos los caninos que ingresan al país, priorizando los que provienen de zonas endémicas, requiriendo así un diagnóstico negativo previo a su ingreso ya que este test tiene alta sensibilidad y es de fácil aplicación lo que permitiría prevenir a tiempo esta enfermedad en nuestro país. Así mismo sería aconsejable recomendar la eutanasia en los caninos que actualmente se encuentran diagnosticados en nuestro país, para prevenir su expansión. También se debería brindar información a la población sobre esta enfermedad y sus formas de prevención, sobre todo a aquellos radicados en el norte del país, ya que el vector se está dispersando por el mismo.

5. BIBLIOGRAFIA:

1. Abbas AK, Lichman AH, Pillai S. (2008). Inmunología celular y molecular. 6ª. Ed. Barcelona. Elsevier, 527p.
2. Alvar J, Nieto J.(2001). Leishmania canina, en las leishmaniasis: de la biología al control. 2ª ed. Madrid. Laboratorios Intervet, 95p.
3. Baneth G, Koutinas A, Solano-Gallego L, Boureau P, Ferrer L. (2008). Canine leishmaniasis- new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492208001323> Fecha de consulta: 13 de octubre del 2013.
4. Basmadjian Y, (2013). Situación en Uruguay. Implicancia para la Salud Publica. Curso Actualización en el diagnóstico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.
5. Bongiorno G, Paparcone R, Faglia V, Oliva G, Cuisinier A, Gradoni L. (2013). Vaccination with LiESP/QA-21 (CaniLeish) reduces the intensity of infection in Phlebotomus perniciosus fed on Leishmania infantum infected dogs- A preliminary xenodiagnosis study. Vet. Parasitol. 197: 691-695.
6. Bowman, Dwigth D. (2004). Gorgis parasitológica para veterinaries. 8° ed, Madrid, Elsevier 440 p.
7. Brazil R, Caballero N, Gordon J. (2009). Identification of the sex pheromone of Lutzomyia longipalpis (Lutz & Nieve, 1912) (Diptera: Psychodidae) from Asuncion, Paraguay. Disponible en: www.parasitesandvectors.com/content/2/1/51 Fecha de consulta: 13 de agosto de 2013.
8. Brianti E, Falsone L, Napoli E, Prudente C, Gaglio G, Giannetto S.(2013). Efficacy of a combination of 10% imidacloprid and 4,5% flumethrin (Seresto) in slow release collars to control ticks and fleas in highly infested dog communities. Disponible en: www.biomedcentral.com Fecha de consulta: 2 de agosto del 2013.
9. Cabrera O, Munstermann L, Cardenas R, Gutierrez R, Ferro C. (2002). Definición de las condiciones de temperatura y almacenamiento adecuadas en la detección de ADN de leishmania por PCR en flebotominos. Biomedica 22:296-302.

10. Coura- Vital W, Barbosa A, Soares L, Braga S, Mendes B, de Olivera R, Marques M, Veloso V, Corneiro M. (2013). Canine visceral leishmaniasis: Incidence and risk factors for infection in a cohort study in Brazil. *Vet Parasitol.* 197: 411-417.

11. Cruz I, Acosta L, Gutierrez M, Nieto J, Cañavate C, Deschutter J, Bornay-Linares F. (2010). A canine leishmaniasis pilot survey in an emerging focus of visceral leishmaniasis: Posadas (Misiones, Argentina). Disponible en: www.biomedcentral.com/1471-2334/10/342 Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.

12. Dantas-Torres F. (2009). Canine leishmaniasis in South America. *BMC* Disponible en: www.biomedcentral.com Fecha de consulta: 2 de agosto del 2013.

13. Dantas-Torres F, (2007). The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. Disponible en www.sincdirect.com Fecha de consulta: 3 de junio del 2013.

14. Despejeux P. (2004). Leishmaniasis: current situations and new perspectives. *Comp. Immunol Microbiol Inf. Dis*; 27:305- 318.

15. Dietze R, Baptista G, Texeira L, Harris J, Michelson K, Flaqueto A, Corey R (1997). Effect of eliminating sero-positive canines on the transmission of visceral Leishmaniasis in Brazil. Disponible en: <http://cid.oxford.journals.org>. Fecha de consulta: 12 de octubre del 2013.

16. Dourado Z, Silveira- Lacerda E, Machado M, Silva H, Sousa E, Ferreira R, Onofre R, Santos M, Garcia- Zapata M. (2005). Avaliação do teste rápido de leishmaniose visceral em área endêmica no estado do Tocantins, Brasil: Dados preliminares. Disponible en: http://www.ufg.br/conpeex/2005/porta_arquivos/posgraduacao/ZILMAFERR EIRADOURADOESOUS A AVALIA%C3%87%C3%82ODOTESTER%C3%81PIDODELEISHMANIOSEVISCERAL-EM%C3%81REAEND%C3%8AMICA_1610.pdf Fecha de consulta: 10 de octubre de 2013.

17. Duarte E, Mendes de Souza V, Sreenivason M, Goes E, Pontes de Carvalho L. (2004). Assessment of an optimized dog- culling program in the dynamics of canine Leishmania transmission. *Vet Parasitology.* 122:245-252.

18. Dujardin JC, Campino L, Cañavete C, Dedet JP, Gardoni L, Soteriadou K, Mazeris A, Ozbel Y, Boelaert M, (2008). Spread of Vector- Borne Diseases and Neglected of Leishmaniasis, Europe. Disponible en: www.cdc.gov/eid. Fecha de consulta: 15 de marzo del 2013.
19. Elkhoury A. 2010. Vigilancia y Control de las leishmaniasis en la región de las Américas. Bs As. CD-ROM.
20. Elkhoury A. (2011). Plano de trabajo para el fortalecimiento de las acciones de Vigilancia y Control de las Leishmaniasis en la región de las Américas. Bs As. CD-ROM.
21. Fernández, J, Tulio, A, Charry C, Felio, J, Escovar, J, Lozano C, Ayala, M, Nicholls R, Vargas, J, Moncada, L, Corredor, A, Lopez, M, (2002). Prevalencia de leishmaniasis visceral canina en Municipios de Huila-Colombia. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v4n3/v4n3a05.pdf>. Fecha de consulta: 3 junio 2013.
22. Ferrer L, Roura X. (2009). La serología y la leishmaniasis canina. Disponible en agros.portalveterinaria.com/.../LEISHMANIA.../serología-leishman. Fecha de consulta: 3 de junio del 2013.
23. Ferrer L, Roura X. (2009). Tratamiento de la leishmaniasis canina. Disponible en: agros.portalveterinaria.com/.../LEISHMANIA.../tratamiento-leishman. Fecha de consulta: 5 de junio del 2013.
24. Ferrer L. (2009). Infección e inmunidad en la Leishmaniasis canina. Simpósio de Leishmaniasis- ANCLIVEPA Minas Gerais 18- 19 julho del 2009. Disponible en: www.anclivepa-mg.com.br/./1_Infeccion_e_inmunidad_en_la_LCa. Fecha de consulta: 25 de marzo del 2013.
25. Ferrer L. (2009). Clasificación clínica y diagnóstico de la Leishmaniasis canina. Simposio de Leishmaniasis - ANCLIVEPA Minas Gerais 18- 19 julho del 2009. Disponible en: www.anclivepa-mg.com.br/./2_Diagnostico_y_clasificacion_clinic. Fecha de consulta: 25 de marzo del 2013.
26. Ferrer L. (2009). 10 preguntas claves en relación al diagnóstico de la Leishmaniasis canina. Simposio de Leishmaniasis - ANCLIVEPA Minas Gerais 18- 19 julho del 2009. Disponible en: www.anclivepa-mg.com.br/./3_10_preguntas_claves. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2013.

27. Ferrer L. (2009). Problemas diagnósticos en la Leishmaniosis canina. Simposio de Leishmaniosis - ANCLIVEPA Minas Gerais 18- 19 julho del 2009. Disponible en:

www.anclivepa-mg.com.br/./4_Problemas_en_el_diagnostico_de_la_LCa

Fecha de consulta: 30 de marzo del 2013.

28. Ferrer L. (2009). Tratamiento de la Leishmaniosis canina: el protocolo HCV-UAB. Simposio de Leishmaniosis - ANCLIVEPA Minas Gerais 18- 19 julho del 2009. Disponible en:

www.anclivepa-mg.com.br/./5_tratamiento_de_la_LCa. Fecha de

consulta: 15 de abril del 2013.

29. Figueredo F, (2013). Situación de la Leishmaniosis en la Región. Curso Actualización en el diagnostico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.

30. Figueredo F, 2013. Diagnostico clínico y de laboratorio. Remisión/Muestras. Curso Actualización en el diagnostico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.

31. Figueredo F, (2013). Programa de Leishmaniosis en Brasil. Curso Actualización en el diagnostico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.

32. Figueredo F, (2013). Medidas Preventivas. Facultad de Veterinaria. Uruguay. Curso Actualización en el diagnostico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.

33. Fontana D, Granzio L, de Silveira L, Langoni H, Saravia K (2013). Prevalence of *toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.* infection in cats from Brazil. Vet Parasitol. 197: 634-637.

34. Green CE. (2000). Enfermedades infecciosas del perro y el gato 2ª ed. México 495p.

35. Greene CE. (2008). Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 3ª ed. Buenos Aires. Intermedica, 1500p.

36. Guerrero R. (2010). Departamento de control de comercio internacional. Montevideo, Uruguay. CD ROM.

37. Lorenz A, (2008). Consenso sobre leishmaniasis, 2008. Sociedad Argentina de dermatología. Disponible en: <http://www.dermatolarg.org.ar/index.php/dermatolarg/article/viewFile/241/105>. Fecha de consulta: 13 de mayo del 2013.
38. Lucientes J, Castillo JA, García MA, Peribañez MA. (2005). Flebótomos, de la biología al control. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080805.html>. Fecha de consulta: 3 junio 2013.
39. Maidana H, Llano E, Baez H, Cabrera WR, Lopez J (2011). Casuística de la Leishmaniosis visceral canina en ciudades de la Provincia de Corrientes (Argentina) donde se registraron casos humanos. Rev. Vet. 22 (2): 144-146.
40. Manual de la OIE sobre animales terrestres (2008). Disponible en: www.oie.int/fileadmin/Home/esp/. Fecha de consulta: 13 de marzo del 2013.
41. Martín- Sánchez J, Acedo C, Muñoz-Pérez M, Pesson B, Marchal O, Morillas- Márquez F. (2007). Infection by leishmania infantum in cats: Epidemiological study in Spain. Vet Parasitol. 145: 267- 273.
42. Miro G, Fariñas F, Ferrer L, McGahie D, Reme C. (2011). Simposio "Avances en el manejo de la Leishmaniasis canina"; Barcelona, España: 6-22.
43. Miró G (2007). Leishmaniasis canina: situación actual en Europa, diagnóstico y control. Acta Scient. Vet. 35 (2): 227-229.
44. Moreira MAB, Luvizotto MCR, Garcia JF, Corbett CEP, Laurenti MD, (2006). Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. Disponible en www.sincedirect.com Fecha de consulta: 2 de abril del 2013.
45. MSP (2011). Boletín epidemiológico. Leishmaniasis visceral. Disponible en: www.msp.gub.uy/andocasociado. Fecha de consulta: 23 de agosto de 2013.
46. Nery CH, (2011). How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44(2):232-242, Disponible en <http://www.scielo.br>. Fecha de consulta: 3 de junio del 2013.
47. Nery CH, (2001). Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil Rev Soc. Bras. Med. Trop. 34(2): 223-228.

48. Noli C, Silva T (2005). Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Vet. Dermatol.* 16: 213-232.
49. Olivera K, Martins L, Pedrosso J, Olivera B, Patto P, de Rezende F, Felix V. (2013). CD95 (FAS) and CD178 (FASL) induce the apoptosis of CD4+ and CD8+ cell isolated from peripheral blood and spleen of dogs naturally infected with *Leishmania spp.* *Vet Parasitol*; 197: 470-476.
50. Organización Mundial de la Salud. Disponible en: www.who.int/leishmaniasis. Fecha de consulta: 17 de marzo del 2013.
51. OPS/OMS. (2006). Leishmaniasis. Informe epidemiológico de las Américas. Disponible en: http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21609&Itemid=%20 Fecha de consulta: 3 de junio del 2013.
52. OPS/OMS. (2005). Consulta de expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis visceral en las Américas. Disponible en: www.panaftosa.org.br
53. OPS. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 3ª ed. Vol. III. p 53-64. Disponible en: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/711/9275119936.pdf?sequence=2#page=77> Fecha de consulta: 3 de junio del 2013
54. Pacheco da Silva JP, Arredondo C, Tricca G, Pedrana G. (2009). Leishmaniasis en Uruguay: Descripción de un caso clínico canino y su diagnóstico Histopatológico. Disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet. Fecha de consulta: 19 de marzo del 2013.
55. Peloi J, Frate T, Silva L, Marinho M, Dalstra M, Walker A, Leutenegger C, Marcondes M. 2011. *Leishmania chagasi*: infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. *Vet Parasitol.* 178: 22-28.
56. Rodríguez N, Cardona M, Guglielmo Z, Rodríguez A. (2001). Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de *Leishmania spp* en áreas endémicas de Venezuela. *Bol. Malariol. Sal. Amb.*;41(1/2):21-26,
57. Rodrigues P, de Barros M, Mode G, Prado D, Fabrini G, Martinaso M, Carlos A, de Olivera R. (2013). Influence of apoptosis on the cutaneous and peripheral lymph node inflammatory response in dogs with visceral leishmaniasis, *Vet. Parasitol.* 192:149-157.

58. Romero M, Lopez MC, Echeverry MC, Rivas, FA. (2008). Leishmaniasis visceral canina. Pruebas diagnosticas no identifican estados reales de la infección. Rev. Salud Pública. Colombia 10(2): 290-298.
59. Romero M, Sanchez J. (2007). Una mirada a la epidemiología y al control de la leishmaniosis zoonótica en Colombia. Biosalud. 6: 99-111.
60. Rotureau B, Ravel C, Aznar C, Carme B, Dadet J-P (2006). First report of *Leishmania infantum* in French Guiana: Canine visceral leishmaniasis imported from the old World. J. Clin. Microbiol 44 (3): 1120-1122.
61. Sainz A. (2011). Leishmaniosis, Erlichiosis. Situación en gatos. Disponible en: http://www.avepa.org/pdf/proceedings/GTA2011/FELINA1_Sainz.pdf
Fecha de consulta: 12 de octubre de 2013.
62. Salomon OD, Basmadjian Y, Fernández MS, Santini MS. (2011). *Lutzomya longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 106: 381-382. .
63. Salomon, OD, Sinagra A, Nevot MC, Barberian G, Paulin, P, Estévez JO, Riarte, A, Estévez J. (2008) First visceral leishmaniasis focus in Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 103(1): 109-111.
64. Salomón, OD Mastrángelo, AV, Santini, MS; Ruvinsky, S Orduna, Tomás, Sinagra, A, Luna C, Riarte A, Casas N, Aminotti, P. (2012). Leishmaniasis visceral: senderos que confluyen y se bifurcan. Disponible en: <http://www.scielo.org/pdf/scol/v8s1/v8s1a11.pdf> . Fecha de consulta: 3 junio 2013.
65. Salomón OD, Rosa JR, Fabiani M, San Miguel SR, Szelag EA, Neporte M, Parras MA (2010). Distribución de *Lutzomya longipalpis* en el chaco Argentino. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0025-76802011000500005&script=sci_arttext&tlng=pt Fecha de consulta: 10 de julio del 2013.
66. Santini MS, Salomon OD. (2012). Eco- epidemiología de las leishmaniosis Argentina. Rev. Arg. Parasitol 1 (1): 16-25.
67. Sainz, A. 2011. Leishmaniosis, Erlichiosis. Situación en gatos. Disponible en: http://www.avepa.org/pdf/proceedings/GTA2011/FELINA1_Sainz.pdf.
Fecha de Consulta: 3 de octubre de 2013.
68. Savani, E.S.M.M., de Oliveira Camargo, M.C.G., de Carvalho, M.R., Zampieri, R.A., dos Santos, M.G., D'áuria, S.R.N., Shaw, J.J., Floeter-Winter, L.M., 2004. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix*

- catus) from Cotia County, São Paulo State Brazil. Vet. Parasitol. 25: 229-233.
69. Scavone D, (2013). "Problemas diagnósticos de la leishmaniosis canina" Curso de Educación Continua sobre dermatología. Montevideo, Uruguay. CD ROM.
70. Scavone D, (2013). "Casos clínicos en caninos en Uruguay" . Curso Actualización en el diagnóstico de la Leishmaniosis. Montevideo, Uruguay. CD ROM.
71. Silva F (2007). Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. Rev. Trop. Cienc. Agr. Biol. V1; 20-31.
72. Soares L, Coura-Vital W, Mendes B, Maduro L, Gama H, Fortes de Brito R, de Melo D, Carneiro M, Cordeiro R, Marques M, Martins L, Barbosa A. (2013). Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis. A comparative study of three methods using skin and spleen from dogs with natural *leishmania infantum* infection. Vet Parasitol 197: 498-503.
73. Soares I, Silva S, Moraghi F, Gaviao L, Fratini P, de Pino R, Monteiro da Silva J, Melo M, Palhares M. (2013). First evidence of autochthonous cases of *Leishmania (Leishmania) infantum* in horse (*Equus caballus*) in the Americas mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Vet Parasitol. 197: 665-669.
74. Solano- Gallego L, Koutinas G, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. (2009). Directions for the diagnosis clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet. Parasitol. 165:1-18.
75. Solano- Gallego L, Miro G, Koutinas A, Cardoso L, Gratia M, Ferrer L, Bourdeau P, Olivera G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Disponible en: www.parasitesandvectors.com/content/4/1/86. Fecha de consulta: 12 de octubre de 2013.
76. Suárez B, Isidoro B, Santos S, Sierra M, Molina M, Astray J, Amela C, (2012). Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *leishmania infantum* en España. Rev Esp Salud Pública 86: 555-564.
77. Tizard IR. (1998). Inmunología Veterinaria. 5ª ed. Mexico. McGraw- Hill, 567p.
78. Velásquez L, Medina M, Pedrozo R, Miret J, Coiro C, Generoso, D, Kikuit M, Costa da Silva R, Langoni H. (2011). Prevalencia de anticuerpos anti-*leishmania infantum* por inmunofluorescencia indirecta y estudio de factores de riesgo en gatos domésticos de Paraguay. Vet e Zootec. 18 (2): 284-296.

