



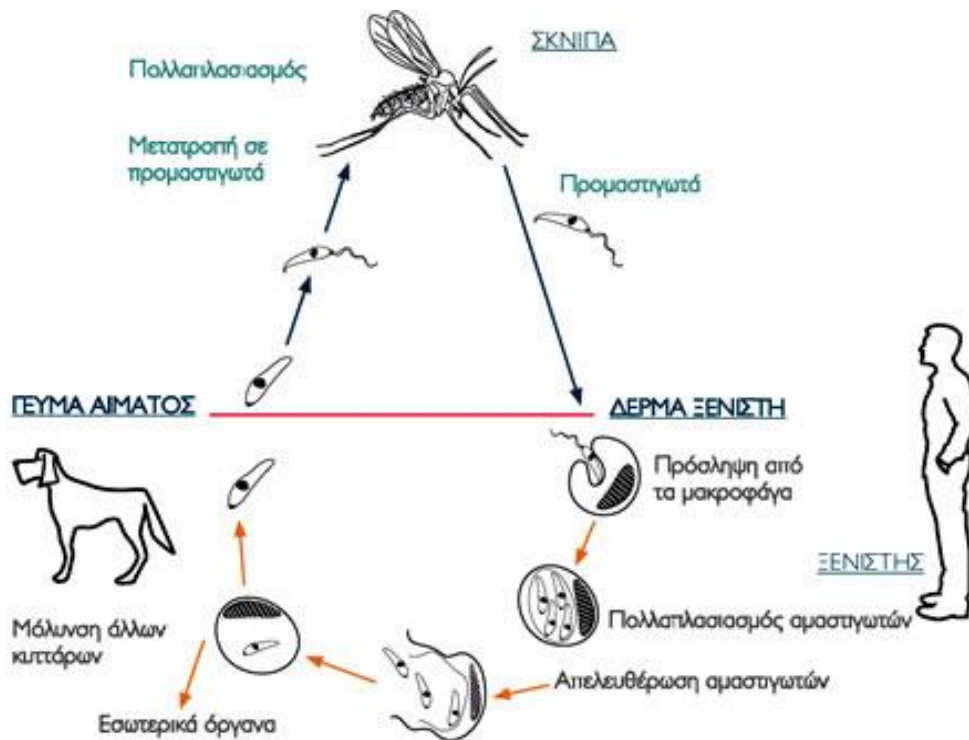
ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ:

« Η ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ ΣΤΟ ΣΚΥΛΟ »



Εικόνα 0-1: Βιολογικός κύκλος της *L. Infantum*.

ΦΟΙΤΗΤΗΣ: ΜΠΑΣΔΑΡΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΑΜ: 165/2013

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΜΑΖΑΡΑΚΗ ΚΥΡΙΑΚΗ Επίκουρη
Καθηγήτρια ΔΙ.ΠΑ.Ε.

Περιεχόμενα

Η ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ ΣΤΟ ΣΚΥΛΟ.....	1
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT.....	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ.....	10
1.1 Κύκλος Μετάδοσης και Ζωής.....	10
1.2 Ανοσολογία και Συμπτώματα.....	15
1.3 Τρέχουσες Μέθοδοι Ελέγχου που Βασίζονται στην Παρεμβολή Sandfly στην Παρεμπόδιση της Μετάδοσης της Σπλαχνικής λεισμανίασης των σκύλων.....	21
1.4 Εργαστηριακά Ευρήματα.....	22
1.5 Διανομή και Επιδημιολογία.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	26
2.1 Κυνοειδής και Ανθρώπινη Λεισμανίαση.....	26
2.2 Δυσκολίες στον Καθορισμό Σχεδίων Ελέγχου.....	27
2.3 Διάγνωση.....	28
2.4 Πρόληψη και Έλεγχος.....	30
2.5 Εμβόλια κατά της Λεισμανίασης.....	31
2.6 Συμβατική Θεραπεία της Λεισμανίασης.....	34
2.7 Speed Test Leish.....	36
2.8 Ανοσοθεραπεία και Ανοσοχημειοθεραπεία ως Στρατηγικές για τη Βελτίωση της Αποτελεσματικότητας της Θεραπείας της Λεισμανίασης των Σκύλων.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ.....	42
3.1 Περιστατικό 1°.....	42
3.2 Περιστατικό 2°.....	45
3.3 Περιστατικό 3°.....	48
3.4 Περιστατικό 4°.....	50
3.5 Περιστατικό 5°.....	53
3.6 Περιστατικό 6°.....	55
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	57
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	58
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια των σπουδών μου στο τμήμα Γεωπονίας, της Σχολής Γεωτεχνικών Επιστημών με κατεύθυνση στη Ζωική παραγωγή του Διεθνούς Πανεπιστημίου της Ελλάδος στη Θεσσαλονίκη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια κά. Μαζαράκη Κυριακή επίκουρη καθηγήτρια ΔΙ.ΠΑ.Ε. για την αποδοχή της αίτησης μου για εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κτηνίατρο κ. Καραγεωργίου Μαρίνα – Αναστασία και τη βοηθό της που με δέχτηκε στο κτηνιατρείο της για πρακτική άσκηση στα πλαίσια τις οποίας πραγματοποιήσαμε και συλλογή δεδομένων για την εκπόνηση του εργαστηριακού μέρους της πτυχιακής μου εργασίας, καθώς και για την υπομονή και την πολύτιμη βοήθεια, και καθοδήγηση που μου παρείχε κατά τη διεκπεραίωση της.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η λεισμανίαση των σκύλων ή αλλιώς CanL (Canine Leishmaniasis) είναι μια ασθένεια που μεταδίδεται από φορείς, τις θηλυκές σκνίπες φλεβοτόμους, προκαλείται από το *Leishmania infantum* και μεταδίδεται κυρίως μεταξύ ζώων και δευτερευόντως σε ανθρώπους. Μια παρασιτολογική θεραπεία σπάνια επιτυγχάνεται και οι κλινικές υποτροπές της Canine Leishmaniasis είναι συχνές. Η σπλαχνική λεισμανίαση (VL), που προκαλείται από τα πρωτόζωα του γένους *Leishmania*, είναι η πιο σοβαρή μορφή λεισμανίασης. Η *Leishmania infantum* είναι ένα από τα είδη που ευθύνονται για τη νόσο και η ασθένεια που προκαλείται θεωρείται ζωνόσος της οποίας κύρια δεξαμενή είναι ο σκύλος. Η σπλαχνική λεισμανίαση των σκύλων (CVL) μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο του ζώου εάν αφηθεί χωρίς θεραπεία. Επιπλέον, η διαθέσιμη φαρμακολογική θεραπεία παρουσιάζει πολλά μειονεκτήματα, όπως υποτροπές, τοξικότητα, αντοχή στα φάρμακα και το γεγονός ότι τα ζώα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία εξακολουθούν να είναι δεξαμενές όταν η θεραπεία αποτυγχάνει να επιτύχει παρασιτολογική κάθαρση. Επιπλέον, οι διαθέσιμες μέθοδοι ελέγχου της VL δεν ήταν επαρκείς όσον αφορά τον έλεγχο της μετάδοσης των παρασίτων. Η πρόοδος στη γνώση της ανοσολογικής απόκρισης τα τελευταία χρόνια οδήγησε σε καλύτερη κατανόηση της παθογένειας, επιτρέποντας την ανάπτυξη νέων θεραπειών με βάση την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, που συχνά αναφέρονται ως ανοσοθεραπεία. Στην πραγματικότητα, έχουν περιγραφεί καλά καθορισμένα πρωτόκολλα, που κυμαίνονται από τη χρήση ανοσοτροποποιητών έως τη χρήση εμβολίων. Αυτή η θεραπεία, η οποία μπορεί επίσης να σχετίζεται με τη χημειοθεραπεία, έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική στην αποκατάσταση ή την πρόκληση επαρκούς ανοσοαπόκρισης για τη μείωση του παρασιτικού φόρτου, οδηγώντας σε κλινική βελτίωση. Η παρούσα ανασκόπηση επικεντρώνεται στην ανοσοθεραπεία που απευθύνεται σε σκύλους που έχουν μολυνθεί από το *L. infantum*, συμπεριλαμβανομένης μιας βιβλιογραφικής ανασκόπησης του τι έχει ήδη γίνει σε σκύλους.

ABSTRACT

Canine leishmaniasis, or CanL (Canine Leishmaniasis) is a vector-borne disease, the female phlebotomine mosquitoes, caused by *Leishmania infantum* and transmitted primarily between animals and secondarily to humans. A parasitological cure is rarely achieved and clinical relapses of Canine Leishmaniasis are frequent. Visceral leishmaniasis (VL), caused by protozoa of the genus *Leishmania*, is the most severe form of leishmaniasis. *Leishmania infantum* is one of the species responsible for the disease and the disease caused is considered a zoonotic disease whose main reservoir is the dog. Canine visceral leishmaniasis (CVL) can lead to the death of the animal if left untreated. In addition, the available pharmacological treatment has many drawbacks, such as relapses, toxicity, drug resistance and the fact that treated animals are still reservoirs when treatment fails to achieve parasitological cure. In addition, the available methods of VL control have not been adequate in terms of controlling parasite transmission. Advances in knowledge of the immune response in recent years have led to a better understanding of the pathogenesis, allowing the development of new immune activation-based therapies, often referred to as immunotherapy. In fact, well-defined protocols have been described, ranging from the use of immunomodulators to the use of vaccines. This therapy, which may also be related to chemotherapy, has been shown to be effective in restoring or inducing an adequate immune response to reduce the parasite burden, leading to clinical improvement. This review focuses on immunotherapy directed at dogs infected with *L. infantum*, including a literature review of what has already been done in dogs.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λείσμανίαση είναι μια ομάδα ασθενειών που παράγονται από την εισβολή πρωτοζωικών παρασίτων του γένους *Leishmania* στο μονοπυρηνικό φαγοκυτταρικό σύστημα ξενιστών θηλαστικών. Μεταδίδονται κυρίως κατά τις αιματοφαγικές δραστηριότητες των θηλυκών φλεβοτόμων, κοινώς σκνίπες που ανήκουν στα γένη *Lutzomyia* (Νέος Κόσμος) και *Phlebotomus* (Παλαιός Κόσμος). Αυτές οι ασθένειες είναι διαδεδομένες σε τουλάχιστον 98 χώρες και σε 5 ηπείρους, εκ των οποίων η πλειοψηφία είναι υπανάπτυκτες χώρες (World Health Organization 2010, Alvar J. 2012). Περίπου 12 εκατομμύρια άνθρωποι μολύνονται με ένα είδος λείσμανίας ανά πάσα στιγμή (Alvar J.2012).

Περίπου 70 είδη θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, θεωρούνται σπονδυλωτοί ξενιστές διαφορετικών ειδών της Λείσμανίας σε όλο τον κόσμο, και μερικά από αυτά είναι δεξαμενές του παρασίτου στη φύση (World Health Organization 2010). Παρόλο που η φυσική μόλυνση σε τρωκτικά (Tsakmakidis K.2017) είναι πιο συχνή, το παράσιτο είναι σε θέση να μολύνει, μαρσιποφόρα (Montoya A. 2016), χειροπτεράνα (De Lima H 2008), λαγόμορφα (Tsokana C.N 2016), προκουνίδια (Lainson R., 1989), Περισοδάκτυλα (Soares I. R. 2013), και πρωτεύοντα (Lainson R., 1989, Malta M. C. C.,2010). Ο προσδιορισμός του ακριβούς ρόλου που διαδραματίζει κάθε ξενιστής στον κύκλο μετάδοσης παραμένει μια πρόκληση.

Αυτά τα πρωτόζωα προκαλούν μια μεγάλη ποικιλία κλινικών μορφών που κυμαίνονται σε σοβαρότητα από την αυτοθεραπευτική δερματική λείσμανίαση (CL) έως τη θανατηφόρα διάχυτη σπλαγγχνική λείσμανίαση (VL) (Dumonteil E., 2003). Μεταξύ των αναγνωρισμένων κλινικών μορφών της νόσου, το kala-azar ή VL, είναι η πιο σοβαρή μορφή, εξελίσσεται προοδευτικά και είναι σχεδόν πάντα θανατηφόρα αν δεν αντιμετωπιστεί. Η Ελλάδα είναι μια ενδημική περιοχή, οι σκίπες είναι ευρέως διαδεδομένες στη νότια Ευρώπη, επομένως οι χώρες της μεσογείου αποτελούν ζώνες υψηλού κινδύνου. Η λείσμανίωση είναι ιδιαίτερα »ενεργή» στην Πορτογαλία, στην Ελλάδα και στις περιοχές της Ισπανίας, Ιταλίας, και νότιας Γαλλίας. Περισσότερο από τα δυο τρίτα των σκύλων στη νότια Ευρώπη έχουν μολυνθεί, με τάση επέκτασης της νόσου σε χώρες που βρίσκονται βορειότερα, λόγω κλιματολογικών αλλαγών και μεγαλύτερου αριθμού ανθρώπων που ταξιδεύουν με τους σκύλους τους. Στην ινδική

υποήπειρο και την Ανατολική Αφρική, η VL μεταδίδεται μεταξύ των ανθρώπων (δηλαδή, ανθρωπονωτικό). Στον υπόλοιπο κόσμο η VL είναι ζωνόσος, δηλαδή μεταδίδεται μεταξύ ζώων και μεταδίδεται δευτερευόντως στους ανθρώπους (Costa C. H. N 2011). Το *Leishmania infantum* έχει ταυτοποιηθεί ως ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας της λεισμανίασης των σκύλων (CanL) (Gramiccia M., 2005), η οποία είναι μια σημαντική παγκόσμια ζωνόσος που είναι δυνητικά θανατηφόρα για ανθρώπους και σκύλους (Gramiccia M., 2005), και είναι μία από τις σημαντικότερες αναδυόμενες ασθένειες στον κόσμο (World Health Organization, 2010).

Η λεισμανίαση όπως προαναφέραμε είναι μια ομάδα μολυσματικών παρασιτικών ασθενειών που προκαλούνται από πρωτόζωα του γένους *Leishmania* (Rossi and Fasel, 2017). Η σπλαχνική λεισμανίαση (VL) είναι η πιο σοβαρή μορφή, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε υψηλό ποσοστό θνησιμότητας στους ανθρώπους εάν δεν αντιμετωπιστεί (Alemayehu and Alemayehu, 2017). Είναι γνωστό ότι τρία είδη είναι υπεύθυνα για την πρόκληση VL. Η *Leishmania (Leishmania) donovani* (Laveran and Mesnil, 1903) και *Leishmania (Leishmania) infantum* (Nicolle, 1908) βρίσκονται στον Παλαιό Κόσμο, ενώ η *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha and Chagas, 1937) βρίσκεται στον Νέο Κόσμο. Αν και έχουν διαφορετικά ονόματα και διαφορετική γεωγραφική προέλευση, τα μοριακά δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα *L. infantum* και *L. chagasi* είναι το ίδιο είδος (Maurício et al., 2000).

Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ανθρώπινης σπλαχνικής λεισμανίας VL σε 76 χώρες (Organização Pan-Americana da Saúde, 2018) και, το 2017, το 95% των νέων κρουσμάτων εμφανίστηκε σε επτά χώρες: Βραζιλία, Αιθιοπία, Ινδία, Κένυα, Σομαλία, Νότιο Σουδάν και Σουδάν (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, 2018). Η Βραζιλία αντιπροσωπεύει το 96% του αριθμού των ανθρώπινων κρουσμάτων VL στη Λατινική Αμερική (Organização Pan-Americana da Saúde, 2018).

Η VL, που προκαλείται από τη *L. infantum*, είναι μια ζωνόσος στην οποία ο σκύλος (*Canis familiaris*) χρησιμεύει ως η κύρια οικιακή δεξαμενή (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, 2010; Roatt et al., 2014; Duarte et al., 2016). Η ασθένεια στα σκυλιά μπορεί να εκδηλωθεί προκαλώντας εμφανή κλινικά σημεία που, όταν υπάρχουν, μπορεί να κυμαίνονται από ήπια έως σοβαρά, προκαλώντας θάνατο (Maia-Elkhoury et al., 2008; Reis et al., 2009). Κατά τη διάρκεια της αστικοποίησης της VL (Da Silva et al.,

2017), τα σκυλιά έγιναν υπεύθυνα για τη διάδοση της ασθένειας, τα περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίασης των σκύλων (CVL) προηγούνται των ανθρώπινων περιπτώσεων (Leite et al., 2018).

Τα εφαρμοζόμενα μέτρα ελέγχου VL δεν είναι επαρκή όταν πρόκειται για διακοπή της εξάπλωσης της νόσου. Επιπλέον, τα αντιγόνα της *Leishmania* δεν είναι σε θέση να προκαλέσουν υψηλή ανοσογονικότητα όσον αφορά την προστασία από τη μόλυνση σε σκύλους (Giunchetti et al., 2019). Αν και, η θεραπεία της CVL δεν μπορεί να προκαλέσει πλήρη εξόντωση παρασίτων, αυτό το μέτρο έχει χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό, καταδεικνύοντας έτσι τη στενή σχέση των σκύλων στην κοινωνία μας. Υπό αυτή την έννοια, οι ανοσοθεραπευτικές θεραπείες έχουν αποδειχθεί ελπιδοφόρες έναντι της CVL, με κύριο στόχο την αποκατάσταση της κλινικής εικόνας των σκύλων και, ως εκ τούτου, τον έλεγχο των παρασίτων (Roatt et al., 2017). Αυτή η προσέγγιση μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνη της ή σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (Singh and Sundar, 2014). Το επίκεντρο αυτής της ανασκόπησης είναι οι μέθοδοι ανοσοθεραπείας που έχουν ήδη περιγραφεί για τη θεραπεία CVL, είτε σχετίζονται είτε όχι με χημειοθεραπεία. Λαμβάνοντας υπόψη την πολυπλοκότητα της μετάδοσης CVL, συζητάμε ορισμένες τρέχουσες πτυχές σχετικά με την ανοσολογία, τους βιοδείκτες αντοχής και ευαισθησίας, καθώς και τα διαθέσιμα μέτρα ελέγχου και τη θεραπεία ασθενειών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ

1.1 Κύκλος Μετάδοσης και Ζωής

Από την ανακάλυψη του CanL στην Τυνησία, από τους Nicolle and Comte (1908) (Nicolle C 1908), ο σκύλος έχει εμπλακεί ως κύρια δεξαμενή του αιτιολογικού παράγοντα VL, παίζοντας βασικό ρόλο στη μετάδοσή του (Ribeiro R. R 2013). Άλλα μολυσμένα θηλαστικά, όπως η αλεπού, υπάρχει η υποψία ότι παίζουν επιδημιολογικό ρόλο στη μετάδοση, αλλά η επιβεβαίωση αυτών των ξενιστών ως δεξαμενών και ο αντίκτυπός τους στον κύκλο μετάδοσης είναι άγνωστος (Dantas-Torres F 2007, Lainson R. 1987). Οι λύκοι (*Chrysocyon brachyurus*) και οι σκύλοι (*Speothos venaticus*) μπορεί να είναι μολυσματικοί στους φορείς ακόμη και ελλείψει κλινικών σημείων, αλλά η επιδημιολογική συνάφεια αυτών των ευρημάτων δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί (Malta M. C. C. 2010, Mol J. P. S., 2015). Η ευαισθησία των κατοικίδιων γατών (*Felis catus*) στη μόλυνση από το *L. infantum*, η κλινική έκβαση και η σημασία τους για τη διατήρηση του κύκλου ζωής του παρασίτου είναι ελάχιστα κατανοητά (Maia C., 2011). Φαίνεται ότι η ανοσοαπόκριση στις γάτες είναι αρκετά αποτελεσματική για τον έλεγχο της μόλυνσης και την παροχή ενός ορισμένου βαθμού αντίστασης, εάν δεν υπάρχουν ανοσοκατασταλτικά συμβάντα όπως ρετροϊοί [Feline Immunodeficiency Virus (FIV) και Feline Leukemia Virus (FeLV)] (καρκίνο, αυτοάνοσα νοσήματα και άλλα). Αν και οι μολυσμένες κατοικίδιες γάτες θα μπορούσαν να είναι μολυσματικές για τους κατάλληλους φορείς του *L. infantum*, η επιβεβαίωση αυτών των ξενιστών ως τυχαίων ξενιστών και ως δευτερογενών ή εναλλακτικών δεξαμενών απαιτεί περαιτέρω μελέτη (Maia C.,2011).

Μεταξύ των πάνω από 800 ειδών φλεβοτόμων που εκτιμάται ότι υπάρχουν, περίπου 98 είδη είναι σήμερα αποδεδειγμένα ή ύποπτα φορείς λεισμανίασης (Maroli M 2013). Όπως πολλές άλλες ασθένειες που μεταδίδονται από φορείς, η μετάδοση ξεκινά κατά τη διάρκεια των γευμάτων αίματος που απαιτούν τα θηλυκά προκειμένου να κυφορήσουν μια παρτίδα αυγών. Το παράσιτο έχει έναν διγενετικό κύκλο ζωής, που εναλλάσσεται μεταξύ ξενιστή θηλαστικών και φορέων εντόμων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, όταν ένα είδος φλεβοτόμου τσιμπήσει έναν μολυσμένο ξενιστή,

καταβροχθίζει επίσης μακροφάγα μολυσμένα από στρογγυλεμένες και μη κινητικές μορφές αμαστιγώτου. Στη συνέχεια, τα παράσιτα μετατρέπονται από το αμαστιγώτο στο στάδιο του μαστιγώτου προμαστιγώτη, πολλαπλασιάζονται με δυαδική σχάση στο μεσαίο έντερο και μεταναστεύουν στο πρόσθιο έντερο και στα τμήματα του στόματος(φάρυγγας,προβοσκίδα) του μολυσμένου φορέα φλεβοτόμου. Στη συνέχεια, μπορεί να μεταδοθεί σε άλλους νέους ξενιστές, όπου αυτές οι σκνίπες τρέφονται με γεύματα αίματος και ολοκληρώνεται ο κύκλος των ασπόνδυλων. Όταν οι μολυσματικές μορφές προμαστιγώτου εμβολιάζονται από την προβοσκίδα του φορέα στο δέρμα του ξενιστή, φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα. Στη συνέχεια εξελίσσονται στη μορφή αμαστιγώτου, όπου αναπαράγονται μονογονικά μέχρι να συμβεί ρήξη. Τα παράσιτα εξαπλώνονται διεισδύοντας στα μονοπύρηνα φαγοκύτταρα σε πολλά όργανα, κυρίως σπλήνα, ήπαρ, μυελό των οστών, λεμφαδένες και άλλους ιστούς (Gharbi M 2015, Ayele A., 2016).

Είναι ενδιαφέρον ότι η εμφάνιση αυτόχθονων περιπτώσεων VL σε μέρη όπου η παρουσία φλεβοτόμων δεν έχει αποδειχθεί υποδηλώνει άλλες οδούς μετάδοσης, αρκετές μελέτες έχουν δείξει σαφώς τον πιθανό αντίκτυπο των μη παραδοσιακών οδών μετάδοσης στο CanL, ιδιαίτερα τη σεξουαλική (αφροδίσια) και τη διαπλακουντιακή (κάθετη) μετάδοση, που μπορεί να έχουν επιδημιολογική σημασία στη διάδοση και διατήρηση ασθένειας, ιδιαίτερα ελλείπει του βιολογικού εντόμου (Svobodova V. 2017).

Σεξουαλική και διαπλακουντιακή μετάδοση *Leishmania* έχει ήδη αναφερθεί σε ποντίκια (Rosypal A. C 2005), ανθρώπους (Symmers W. S 1960, Zinchuk A.,2010) και σκύλους (Riera C. 1996, Ben Slimane T. 2014). Οι γεννητικές βλάβες που σχετίζονται με το VL έχουν τεκμηριωθεί καλά σε σκύλους (Silva F. L 2007, Diniz S. A.,2005) και φαίνεται ότι η σεξουαλική μετάδοση σε σκύλους τείνει να είναι πιο αποτελεσματική από το μολυσμένο αρσενικό σε ένα ευαίσθητο θηλυκό (Turchetti A. P. 2014). Η *Leishmania* spp. ανιχνεύθηκε σε πολλά βιολογικά δείγματα από νεογέννητα κουτάβια (Boggiatto P. M., 2011), συμπτωματικά ή ασυμπτωματικά μολυσμένα σκυλιά, που σχετίζονται με νεκρωτική πλακουντίτιδα ή οποιοσδήποτε μεγάλες ή μικροσκοπικές αλλαγές στον πλακούντα (Pangrazio K. K., 2009). Μαζί, αυτές οι μελέτες υποστηρίζουν έντονα την ιδέα ότι το CanL μεταδίδεται κάθετα. Άλλες μορφές μετάδοσης, όπως μόλυνση κατά τη μετάγγιση αίματος ή παράγωγα από μολυσμένους δότες (De Freitas E., 2006, Tabar M. D 2008), μεταμόσχευση οργάνων (Antinori S., 2008) και κοινή χρήση μολυσμένων βελόνων (Morillas-Marquez F. 2002), θα πρέπει να εξετάζονται προσεκτικά . Επιπλέον, ένας ύποπτος

τρόπος μετάδοσης είναι η απευθείας μετάδοση του παρασίτου από σκύλο σε σκύλο με πληγές ή δαγκώματα σκύλων (Naucke T. J. 2016).

Αλλα αρθρόποδα που τρέφονται με αίμα, όπως τσιμπούρια ή ψύλλοι, υπάρχει υποψία ότι μερικές φορές ότι μεταδίδουν *Leishmania* με βάση τη συσχέτιση του CanL με την παρουσία αυτών των εναλλακτικών φορέων. Παρόλο που δεν υπάρχει οριστικό συμπέρασμα σχετικά με τον ρόλο αυτών των εξωπαρασίτων στον κύκλο μετάδοσης της νόσου (Baneth G.2014), εντούτοις είναι σκόπιμο να προληφθούν και να αντιμετωπιστούν τα σκυλιά από ψύλλους, τσιμπούρια και κουνούπια (Franc M, 2012).

Η ανοσοαπόκριση στο CVL έχει μεγάλη σημασία για την κατανόηση της παθογένειας της νόσου (Alvar et al., 2004; Ribeiro et al., 2018; Giunchetti et al., 2019). Το προφίλ ανοσοαπόκρισης μπορεί να προκαλέσει ένα πρότυπο αντίστασης ή ευαισθησίας κατά τη διάρκεια της μόλυνσης από παράσιτα, με αποτέλεσμα διαφορετικές κλινικές μορφές της νόσου (Moreno και Alvar, 2002; Leal et al., 2014; Giunchetti et al., 2019). Όσον αφορά την επαφή με τον ξενιστή σκύλο, εκτός από τον τοπικό σχηματισμό βλαβών που προκαλείται από το δήγμα (Solano-Gallego et al., 2001; Giunchetti et al., 2006; Jacintho et al., 2018), μπορεί να βρεθούν μορφές *L. infantum* promastigotes στο χόριο με το σάλιο. Επίσης η διαδικασία αυτή συγκεντρώνει φαγοκύτταρα, όπως ουδετερόφιλα, μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα, δημιουργώντας ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον (Soulat and Bogdan, 2017).

Μια *in vitro* μελέτη έδειξε ότι τα ουδετερόφιλα είναι κύτταρα με ικανότητα ελέγχου της αρχικής μόλυνσης, με αποτέλεσμα τη μειωμένη βιωσιμότητα των παρασίτων (Pereira et al., 2017). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι τα ουδετερόφιλα έχουν την ικανότητα να παράγουν υψηλά επίπεδα ιντερφερόνη- γ (*IFN- γ*) όταν διεγείρονται με διαλυτό αντιγόνο του *L. infantum* (Leal et al., 2014). Επιπλέον, άλλα μόρια της έμφυτης ανοσίας έχουν συσχετιστεί με την τρέχουσα CVL, όπως τα TLRs (Toll-like receptors)(Hosein et al. 2015; Pereira-Fonseca et al., 2017) και χημειοκίνες (Menezes-Souza et al. , 2012; Solcà et al., 2016).

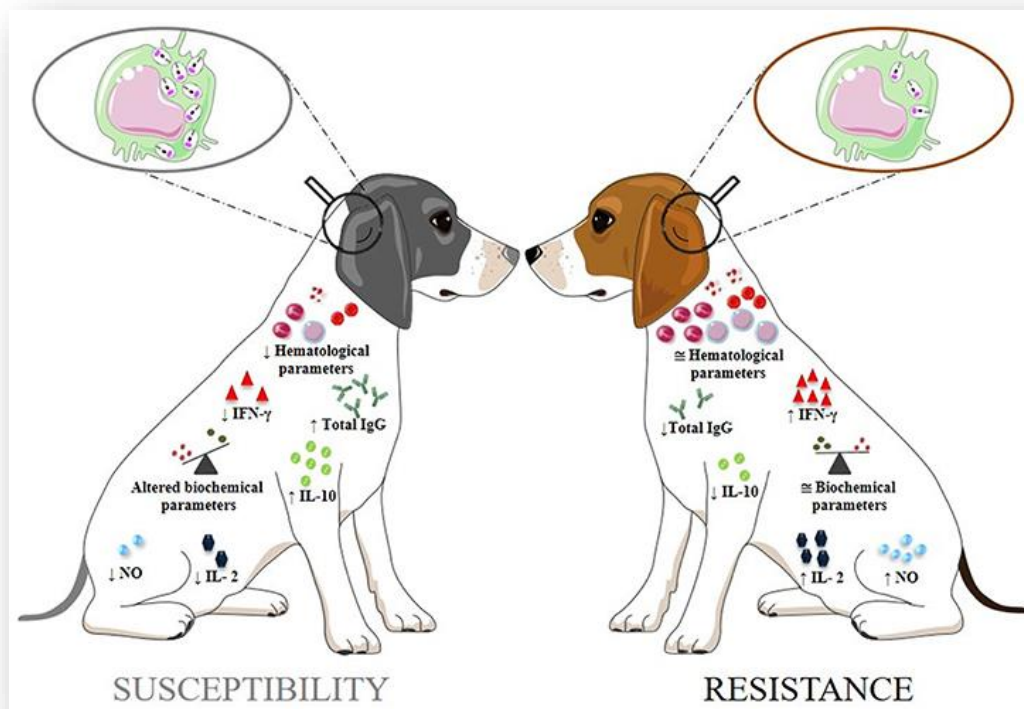
Είναι γνωστό ότι η κύρια ανοσοαπόκριση ενάντια στο παράσιτο προκαλείται ειδικά από την ανοσοαπόκριση τύπου 1, που χαρακτηρίζεται από παραγωγή ιντερφερόνης - γ (*IFN- γ*), παράγοντες νέκρωσης όγκων - α (*TNF- α*) και ιντερλευκίνης 2 (*IL-2*) που σχετίζεται με το προφίλ αντίστασης. Αυτός ο τύπος ανοσοαπόκρισης σχετίζεται με την υπερρύθμιση της αντι-λεισμανιακής δραστηριότητας σε μακροφάγα (Koutinas

and Koutinas, 2014), αυτός είναι ο κύριος μηχανισμός δράσης του ενδοκυττάρου θανάτου των αμαστιγιώτων *Leishmania* (Baneth et al., 2008). Με αυτή την έννοια, η ανοσοαπόκριση τύπου 1 προκαλεί την παραγωγή κυτοκινών, όπως IFN- γ και TNF- α , που κυριαρχούν σε ασυμπτωματικά σκυλιά, αποδεικνύοντας το προστατευτικό τους δυναμικό έναντι της νόσου (Costa-Pereira et al., 2015, Solano-Gallego et al. 2016) απέδειξαν ότι τα μολυσμένα σκυλιά που παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα IFN- γ είχαν χαμηλότερα φορτία παρασίτων σε σύγκριση με μολυσμένα σκυλιά που δεν παρήγαγαν αυτήν την κυτοκίνη. Τα σκυλιά που στερούνται αυτής της κυτοκίνης έχουν πιο σοβαρά κλινικά συμπτώματα, με υψηλότερη παρασιταιμία (Martínez-Orellana et al., 2017).

Αντίθετα, η ανοσοαπόκριση τύπου 2, που χαρακτηρίζεται από τις κυτταροκίνες IL-4, IL-5, IL-10 και TGF- β , σχετίζεται με την ευαισθησία σε CVL (Sanches et al., 2014;, Rodriguez-Cortes et al., 2017; Rossi et al., 2016; Solano-Gallego et al., 2016; Solcà et al., 2016, De Martini et al., 2018). Αυτά τα ευαίσθητα σκυλιά εκδηλώνουν ένα κοινό πρότυπο στην εξέλιξη των κλινικών συμπτωμάτων, με τη σοβαρότητα και την ποικιλία των σημείων να αυξάνονται με την εξέλιξη της νόσου, στα οποία οι περισσότερες κλινικοπαθολογικές αλλαγές γίνονται εμφανείς μετά από 12 μήνες μόλυνσης (Foglia Manzillo et al., 2013). Η ανοσοαπόκριση τύπου 2 παρέχει ένα αντιφλεγμονώδες μικροπεριβάλλον κυτοκίνης που απενεργοποιεί την κυτταρική ανοσοαπόκριση έναντι της μόλυνσης *L. infantum* (Rodriguez-Cortes et al., 2017). Επιπλέον, μια έντονη χημική απόκριση κατά της *Leishmania* οδηγεί στην παραγωγή υψηλών επιπέδων μη ανοσοπροστατευτικών αντισωμάτων (Barbiéri, 2006; Gradoni, 2015), αναδεικνύοντας την πολυκλωνική απόκριση των κυττάρων B που χαρακτηρίζουν την ευαισθησία σε CVL (Koutinas and Koutinas, 2014). Δεν υπάρχει ακόμη συναίνεση ως προς το ποια υποκατηγορία IgG σχετίζεται με την αντίσταση ή την ευαισθησία στο CVL (Lima et al., 2017; Chaabouni et al., 2018). Επιπλέον, η υπερβολική ενεργοποίηση της χυμικής ανοσίας μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων (Koutinas and Koutinas, 2014), όπως αντιακτίνη και αντιτουβουλίνη (Pateraki et al., 1983), αντιπυρηνικά (Smith et al., 2004; Ginel et al., 2008), και αντιτρανσφερίνη (Chaabouni et al., 2018).

Παρόλο που οι παράμετροι κυτταρικής και χημικής ανοσίας βοηθούν στην κατανόηση της εξέλιξης του CVL, καθώς και στους μηχανισμούς που σχετίζονται με την αντίσταση ή την ευαισθησία, απαιτούνται ολοκληρωμένες μελέτες πολλών βιοδεικτών για καλύτερη κατανόηση της νόσου (Solcà et al., 2016). Στα ασυμπτωματικά σκυλιά, οι αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι συνήθως

παραμένουν αμετάβλητες, ενώ στα συμπτωματικά σκυλιά μπορεί να εμφανιστούν αλλαγές (Maia and Campino, 2018). Τα συμπτωματικά σκυλιά έδειξαν σημαντική μείωση στα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λεμφοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα και τα αιμοπετάλια (Lopes et al., 2018). Οι βιοχημικές παράμετροι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της γενικής κατάστασης της υγείας σε CVL. Η συνεχιζόμενη CVL χαρακτηρίζεται από υπερπρωτεϊναιμία, υπολευκοματιναιμία και αλλαγές στην ασπартική αμινοτρανσφεράση, αμινοτρανσφεράση αλανίνης, αλκαλική φωσφατάση, ουρία και κρεατινίνη (Heidarpour et al., 2012; Ribeiro et al., 2018). Αυτές οι παράμετροι είναι ενδιαφέρουσες ενδείξεις για τη θεραπευτική παρακολούθηση, ειδικά εκείνες που σχετίζονται με το νεφρό, αφού η βλάβη σε αυτό το όργανο που σχετίζεται με τη νόσο είναι σχεδόν αναπόφευκτη (Ribeiro et al., 2018). Όλοι οι βιοδείκτες που περιλαμβάνονται σε αυτό το τμήμα και σχετικά με την αντίσταση ή την ευαισθησία στο CVL συνοψίζονται στο σχήμα 1.1.1.



Εικόνα 1.1.1. Οι βιοδείκτες της σπλαχνικής λείσμανίασης του σκύλου που σχετίζονται με την ευαισθησία ή την αντίσταση. Τα βέλη (↑ και ↓) υποδεικνύουν την αύξηση και μείωση των επιπέδων των βιοδεικτών, αντίστοιχα. ≅: κατά προσέγγιση κανονικά επίπεδα. ↓Αιματολογικές παράμετροι: μείωση στα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λεμφοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα και τα αιμοπετάλια. Τροποποιημένες βιοχημικές παράμετροι: υπερπρωτεϊναιμία, υπολευκοματιναιμία, αύξηση της ασπартικής αμινοτρανσφεράσης, αμινοτρανσφεράσης αλανίνης, αλκαλικής φωσφατάσης, ουρίας και κρεατινίνης.

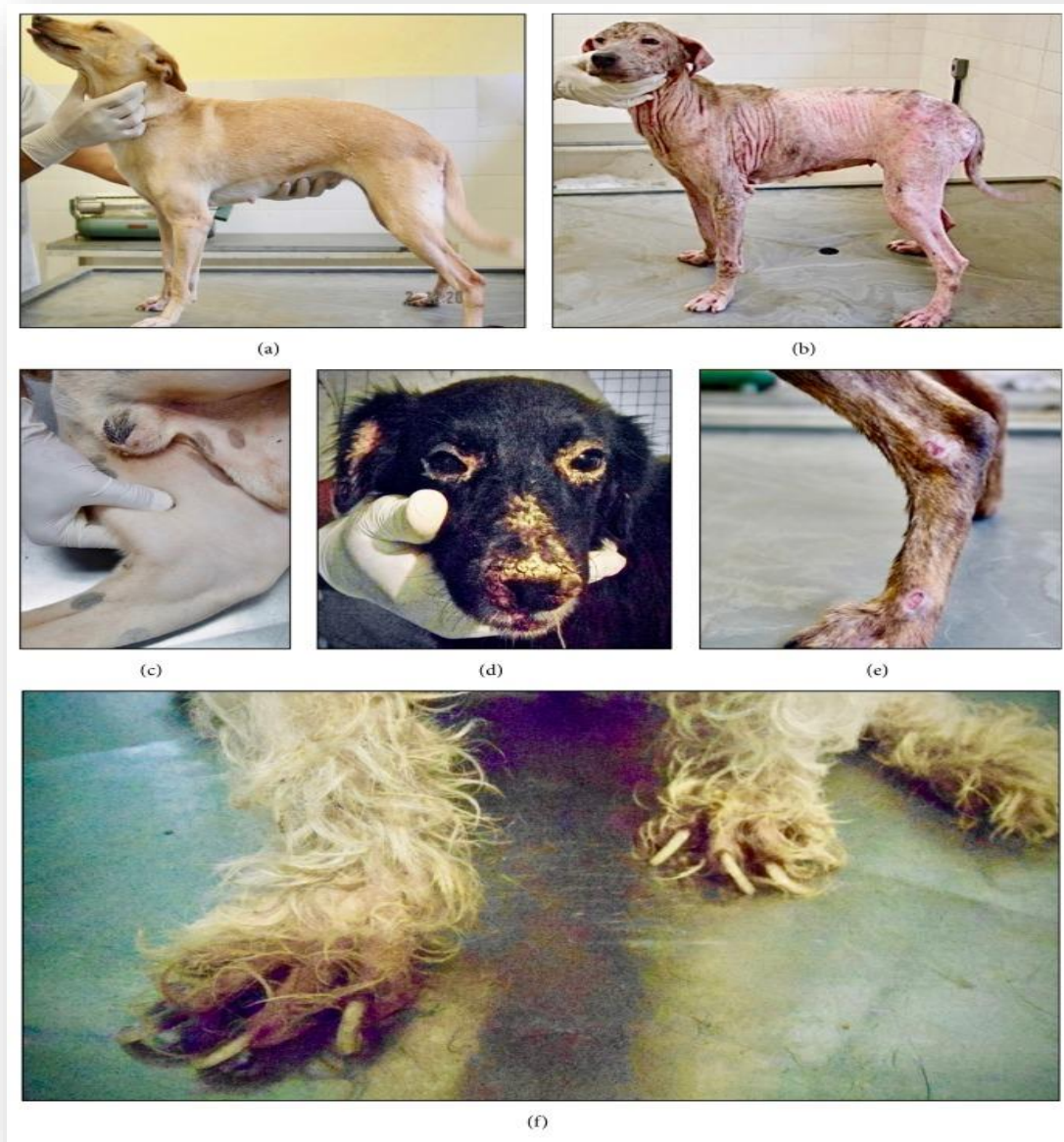
1.2 Ανοσολογία και Συμπτώματα

Ο αριθμός και η ένταση των κλινικών συμπτωμάτων καθορίζονται από ένα σύνολο παραγόντων που περιλαμβάνουν το στέλεχος των παρασίτων, τη γενετική και την ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή. Με αυτόν τον τρόπο, ορισμένα σκυλιά είναι σε θέση να ελέγξουν τη μόλυνση για πολλά χρόνια, χωρίς την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων, και μερικές φορές μπορεί ακόμη και να εξελίξουν αυτόματη θεραπεία. Από την άλλη πλευρά, ορισμένα μολυσμένα σκυλιά μπορεί να εμφανίσουν οξεία εξέλιξη και σοβαρή ασθένεια ή προοδευτική πορεία που οδηγεί αναπόφευκτα στο θάνατο, εάν δεν υιοθετηθεί η σωστή διαχείριση και θεραπεία.

Η κλινική διάγνωση του CanL είναι πολύπλοκη, καθώς σχεδόν το 50% του πληθυσμού των σκύλων που προσβάλλονται δεν εμφανίζει κλινικά συμπτώματα (Mancianti F., 1988). Επιπλέον, όταν τα σκυλιά είναι άρρωστα, εκδηλώνουν ένα μεταβλητό και μη ειδικό κλινικό φάσμα (Gramiccia M., 2005), επειδή το CanL είναι μια χρόνια και πολυσυστημική ασθένεια που ενδέχεται να αφορά οποιοδήποτε όργανο (Solano-Gallego L 2011).

Οι κλινικές εκδηλώσεις σκύλων που έχουν μολυνθεί φυσικά με *L. infantum* φαίνονται στο Σχήμα 1.2.1. Συμπτώματα μπορεί να υπάρχουν από τρεις μήνες έως αρκετά χρόνια μετά τη μόλυνση των σκύλων (Koutinas A. F., 2014). Στην κλασική δερματική σπλαγγχνική μορφή, ένα από τα πρώτα και πιο συνηθισμένα κλινικά σημεία της νόσου είναι η λεμφαδενοπάθεια, η οποία επηρεάζει κυρίως τους ιγνυακούς λεμφαδένες (Σχήμα 1.2.1 (γ)), προπροσωπικοί και υπογναθικοί λεμφαδένες (Lima W. G 2004). Οι δερματολογικές ανωμαλίες εμφανίζονται αργότερα και είναι συχνές και μεταβλητές στον χαρακτηρισμό και την επέκτασή τους. Περίπου το 90% αυτών των σκύλων παρουσιάζουν δερματικές βλάβες. Ωστόσο, οι δερματολογικές αλλοιώσεις είναι σπάνιες ελλείψει άλλων σημείων της νόσου (Ferrer L., 1988). Τα κλασικά δερματολογικά πρότυπα περιλαμβάνουν μη κνησμώδη απολεπιστική δερματίτιδα με ή χωρίς αλωπεκία, η οποία μπορεί να εντοπιστεί ή να διαδοθεί (Εικόνες 1 (β), 1 (δ)). διαβρωτική-ελκώδης δερματίτιδα (Εικόνα 1.2.1 (ε)). οζώδης, βλατιδωτή ή φλυκταινώδης δερματίτιδα. ρινική υπερκεράτωση (Εικόνα 1.2.1 (δ)). ρινικός αποχρωματισμός και ονυχογρύπωση (Εικόνα 1.2.1 (στ)) (Koutinas A. F 2014, Roura X., 2013, Ordeix L 2017). Άλλα σημεία περιλαμβάνουν ανορεξία, χρόνια εντερίτιδα

και απώλεια βάρους, σπληνομεγαλία και ηπατομεγαλία, οφθαλμοπάθεια και υποτροφία μυών (Solano-Gallego L 2011, Koutinas A. F 2014, Roura X., 2013, Pietro S. D., 2016), καθώς και ασυνήθιστα ή άτυπα σημεία όπως αρθρίτιδα και νευρολογικές εκδηλώσεις (Sbrana S., 2014, Giannuzzi A. P 2017).



Εικόνα 1.2.1Κλινικές εκδηλώσεις σκύλων που έχουν μολυνθεί φυσικά με *Leishmania (Leishmania) infantum*: (α) ασυμπτωματικός σκύλος (φαινομενικά υγιής αλλά μολυσμένος). β) γενικευμένη μη κνησμάδης αλωπεκία και πολλαπλές άλλες δερματολογικές ανωμαλίες · (γ) λαϊκή λεμφαδενομεγαλία · (δ) αμφοτερόπλευρη βλεφαρίτιδα και εκτεταμένη προσβολή του ρύγχους με έντονες απολεπιστικές ελκώδεις βλάβες · ε) ελκώδεις βλάβες στις οστικές προεξοχές του ποδιού του πίσω άκρου · στ) ονχογρύπωση. Φωτογραφίες από τους Raul Rio Ribeiro και Cristiano Cheim Peixoto dos Santos.

Η νεφρική νόσος μπορεί να είναι η μόνη κλινική εκδήλωση του CanL και μπορεί να προχωρήσει από ήπια πρωτεϊνουρία σε νεφρωσικό σύνδρομο ή σε νεφρική νόσο τελικού σταδίου (Solano-Gallego L 2011). Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια είναι ένα σοβαρό αποτέλεσμα της εξέλιξης της νόσου και είναι η πιο κοινή αιτία θανάτου (Solano-Gallego L, 2011, Roura X., 2013).

Υπάρχουν δύο γνωστά κλινικά συστήματα σταδιοποίησης για το CanL, με καλό επίπεδο συμφωνίας μεταξύ τους (Proverbio D 2016), τα οποία συμβάλλουν στην καθιέρωση μιας ακριβέστερης διάγνωσης, πρόγνωσης και θεραπείας (Solano-Gallego L 2009) ομαδοποιώντας τα προσβεβλημένα σκυλιά ανάλογα με τη σοβαρότητα της κλινικής τους παρουσίασης. Στο σύστημα LeishVet, η νόσος ταξινομείται σε τέσσερα στάδια εξέλιξης [Στάδιο I: ήπια ασθένεια. Στάδιο II: μέτρια ασθένεια (Υπο -στάδια A και B). Στάδιο III: σοβαρή ασθένεια. Στάδιο IV: πολύ σοβαρή ασθένεια] βασισμένη στη φυσική εξέταση και σχετίζεται με τα επίπεδα αντισωμάτων που καθορίζονται από έμμεσο ανοσοφθορισμό και βιοχημικά-αιματολογικά ευρήματα [συμπεριλαμβανομένης της λεπτομερούς αξιολόγησης της νεφρικής λειτουργίας σύμφωνα με τη Διεθνή Εταιρεία Νεφρικού Ενδιαφέροντος (IRIS)] (Solano-Gallego L 2011). Το Σύστημα Ομάδας Εργασίας για τη Λεισμανίαση των Σκύλων (CLWG) ταξινομεί τα σκυλιά σε πέντε στάδια [Στάδιο A: εκτεθειμένα σκυλιά. Στάδιο B: μολυσμένα σκυλιά. Στάδιο Γ: άρρωστοι σκύλοι (σκύλοι με κλινικά εμφανή λεισμανίαση). Στάδιο Δ: βαριά άρρωστα σκυλιά. Στάδιο E: δεν ανταποκρίνεται στη θεραπεία ή πρόιμη υποτροπή] σύμφωνα με την κλινική κατάσταση και σχετίζεται με ορολογική και παρασιτολογική (κυτταρολογική, ιστολογική, ή PCR) διάγνωση και κλινικοπαθολογικές ανωμαλίες (Roura X., 2013, Paltrinieri S., 2010).

Δεν υπάρχει συναίνεση για την ακριβή συνάφεια κάθε κλινικής μορφής στον κύκλο μετάδοσης του παρασίτου. Ορισμένα στοιχεία υποδηλώνουν ότι πλειοψηφία η των γεγονότων μετάδοσης σε φορείς προέρχονται από ένα μικρό ποσοστό μολυσματικών σκύλων με πολύ υψηλά φορτία παρασίτων στο δέρμα, τα οποία θα συσχετιζόνταν με σοβαρή ασθένεια (Courtenay O., 2002, Courtenay O 2014). Από την άλλη πλευρά, τα ασυμπτωματικά σκυλιά θα μπορούσαν να είναι επίσης πολύ μολυσματικά, υποδεικνύοντας το ρόλο τους στη διατήρηση και εξάπλωση του παρασίτου σε ενδημικές περιοχές (Laurenti M. D., 2013). Παρά τα αντιφατικά αυτά αποτελέσματα και έως ότου είναι διαθέσιμοι συγκεκριμένοι και ευαίσθητοι δείκτες μολυσματικότητας, άμεσοι ή έμμεσοι, είναι συνετό να θεωρηθεί ότι τόσο τα

συμπτωματικά όσο και τα ασυμπτωματικά σκυλιά θα μπορούσαν να είναι μολυσματικά στους φορείς της σκνίπας και ότι θα πρέπει συνεπώς να λαμβάνονται υπόψη εξίσου όταν προτείνουν μέτρα ελέγχου.

Οι ανοσολογικοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την αντίσταση ή την ευαισθησία στη μόλυνση δεν είναι ακόμη καλά γνωστοί. Η αποτελεσματικότητα της ανοσοαπόκρισης αποτελεί θεμελιώδη πτυχή στην παθογένεση της νόσου και την εξέλιξή της (Alvar J., 2004), παίζοντας καθοριστικό ρόλο στις κλινικές εκδηλώσεις του CanL.

Σε ανθρώπους (Kaye P. M. 2011), ποντίκια (Liew F. Y., 1993) και σκύλους (Koutinas A. F 2014) η προστατευτική ανοσία κατά της λεισμανίασης μεσολαβείται από T κύτταρα και σχετίζεται με την παραγωγή IFN- γ και TNF- α , ενώ ο ρόλος των Th2 κυτοκινών, όπως η IL-4 και η IL-10, και η πληθωρική χυμική απόκριση σχετίζονται με προοδευτική νόσο (Koutinas A. F., 2014, Solano-Gallego L., 2009 , Barbiéri C. L 2006).

Φαίνεται ότι η ευαισθησία στο CanL ορισμένων φυλών, όπως Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiler και German Shepherd, μπορεί να σχετίζεται με την έκφραση του γονιδίου Slc11a1 (Solute Carrier family 11a 1; πρώην NRAMP1) ή/και μείζονος ιστοσυμβατότητας σύνθετος (MHC) πολυμορφισμός κατηγορίας II (de Vasconcelos T. C. B., 2017, Romero G. A. S., 2010). Αντιστρόφως, το Ibizan Hound έχει αναφερθεί ότι είναι πιο ανθεκτικό στη μόλυνση Leishmania λόγω του ότι εμφανίζει κυρίως κυτταρική ανοσοαπόκριση (de Vasconcelos T. C. B., 2017, Solano-Gallego L. 2000).

Το μεγαλύτερο ποσοστό μόλυνσης στις φυλές σκύλων πιθανώς οφείλεται σε περισσότερο χρόνο επαφής με τον φορέα εντόμων σε εξωτερικά περιβάλλοντα. Αν και αμφιλεγόμενο, το μήκος του τριχώματος μπορεί πιθανώς να επηρεάσει τον κίνδυνο μόλυνσης, καθώς είναι ένα χαρακτηριστικό που ποικίλλει πολύ μεταξύ των φυλών σκύλων. Εν ολίγοις, φαίνεται ότι οι πιθανότητες μόλυνσης από Leishmania είναι χαμηλότερες σε θηλυκά σκυλιά μικτής φυλής, με μακριά μαλλιά, διατηρημένα σε κατοικίδια ή περιορισμένα (σκύλοι που μεγαλώνουν σε εσωτερικούς χώρους) χωρίς την παρουσία πράσινου περιβάλλοντος κοντά στο σπίτι (Belo V. S., 2013).

Τα συμπτώματα της λειψμανίας σε σκύλους είναι είτε δερματικά - που σημαίνει ότι επηρεάζουν το δέρμα - είτε σπλαχνικά - δηλαδή επηρεάζουν ένα κοιλιακό όργανο.

Ωστόσο, ο χρόνος που απαιτείται για την εμφάνιση των συμπτωμάτων μπορεί να διαφέρει πολύ. Μερικές φορές χρειάζονται μόλις τρεις εβδομάδες ή έως και επτά χρόνια για να εμφανιστούν τα συμπτώματα. Σε σκύλους με ισχυρό ανοσοποιητικό σύστημα, μπορεί να μην εμφανιστούν ποτέ.

Εδώ είναι μερικά από τα συμπτώματα που μπορεί να εμφανιστούν σε σκύλους που πάσχουν από δερματική λειψμανία:

- ❖ Δερματικές βλάβες
- ❖ Αλωπεκία (τριχόπτωση)
- ❖ Δερματίτιδα
- ❖ Λεπτό, παχύ ή αποχρωματισμένο δέρμα
- ❖ Σκασμένο ρύγχος
- ❖ Οζίδια ή εξογκώματα δέρματος
- ❖ Μακριά ή εύθραυστα νύχια

Όταν τα σκυλιά αναπτύσσουν σπλαχνική λειψμανία, γνωστή και ως μαύρος πυρετός, μπορεί να εμφανίσουν τα ακόλουθα συμπτώματα:

- ❖ Διάρροια
- ❖ Αίμα στα κόπρανα
- ❖ Αιμορραγία από τη μύτη
- ❖ Εμετός
- ❖ Αδυναμία άσκησης
- ❖ Πρησμένοι λεμφαδένες
- ❖ Διευρυμένη σπλήνα
- ❖ Μειωμένη όρεξη
- ❖ Απώλεια βάρους
- ❖ Πυρετός
- ❖ Μη φυσιολογικά νύχια
- ❖ Παρόμοια συμπτώματα με νεφρική νόσο
- ❖ Αυξημένη κατανάλωση νερού και ούρηση
- ❖ Πόνος στις αρθρώσεις
- ❖ Μυϊκή φλεγμονή

❖ Αναμμία

Αιτίες της λεισμανίασης σε σκύλους

Την εμφάνιση της λεισμανίασης σε σκύλους μπορεί να προδιαθέσουν και κάποιοι άλλοι παράγοντες.

Τα περισσότερα στελέχη μεταδίδονται μέσω των δαγκωμάτων μολυσμένων φλεβοτόμων, αλλά μερικά μπορεί να μεταδοθούν από σκύλο σε σκύλο μέσω επαφής με μολυσμένο αίμα και σωματικές εκκρίσεις ή από μητέρα σκύλο στα κουτάβια της.

Για άγνωστους λόγους, οι φυλές Foxhound και Neapolitan Mastiff έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη λεισμανίασης (Alemayehu B. 2017).

Η ασθένεια είναι πιο συχνή στις περιοχές της Μεσογείου και της Νότιας Αμερικής, αν και έχει επίσης βρεθεί στην Κεντρική Αμερική, το Μεξικό, τις Ηνωμένες Πολιτείες και μέχρι βορρά στον Καναδά. Επίσης σπάνια εμφανίζεται σε μέρη της Ευρώπης.

Συνιστάται τα σκυλιά που εκτρέφονται ή γεννιούνται σε ενδημικές τοποθεσίες να ελέγχονται για τη νόσο. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι το εμβόλιο της λεπτοσπείρωσης οδηγεί σε ψευδώς θετικά κατά τον έλεγχο για λεισμανίαση και ψευδώς αρνητικά μπορεί να συμβούν όταν οι δοκιμές δεν είναι αρκετά ευαίσθητες (Andrade, H 2011).

1.3 Τρέχουσες Μέθοδοι Ελέγχου που Βασίζονται στην Παρεμβολή γεύματος και στην Παρεμπόδιση της Μετάδοσης της Σπλαχνικής λειψμανίασης των σκύλων

Η προσέγγιση του ελέγχου της σπλαχνικής λειψμανίασης πρέπει να λάβει υπόψη όλα τα στοιχεία στο κύκλο μετάδοσης, όπως (i) φλεβοτόμος φορέας i) δεξαμενές παρασίτων και (iii) ανθρώπινη υγεία. Υπό αυτή την έννοια, τα μέτρα ελέγχου της υγείας και επιτήρησης, καθορίζουν: (i) τη χρήση χημικών εντομοκτόνων και (ii) περιβαλλοντική διαχείριση για τον έλεγχο του φορέα του πληθυσμού και τη μείωση της επαφής μεταξύ ανθρώπου και φορέα, (iii) ορολογικές έρευνες σκύλων, (iv) ευθανασία θετικών περιπτώσεων και έγκαιρη διάγνωση και (v) κατάλληλη θεραπεία ανθρώπινων περιστατικών για την πρόληψη σοβαρών μορφών ασθένειας και θανάτου (Ministério da Saúde, 2014). Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι απαιτείται επείγουσα αναθεώρηση σε αυτό το πρόγραμμα ελέγχου, καθώς η αποτελεσματικότητά του κυμαίνεται από χαμηλή έως μέτρια (Werneck et al., 2014).

Σε μια προσπάθεια να μειωθεί ο πληθυσμός των εντόμων στο περιαστικό περιβάλλον, η διαχείριση που σχετίζεται με τον χημικό ψεκάσμο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προληπτική δράση (Lara-Silva et al., 2017). Ωστόσο, αυτή η στρατηγική δεν είναι βιώσιμη μακροπρόθεσμα λόγω του μεγέθους της περιοχής που πρόκειται να αντιμετωπιστεί (Otranto και Dantas-Torres, 2013). Η χρήση εντομοκτόνων/απωθητικών (κυρίως πυρεθροειδή), εμποτισμένα σε περιλαίμια σκύλων ή χρησιμοποιούνται για ατομική προστασία του ανθρώπου στο δέρμα ή/και στα ρούχα (Alexander and Maroli, 2003) αποσκοπεί στην πρόληψη της επαφής με τον φορέα. Η Δελταμεθρίνη, κύριος εκπρόσωπος σε εμποτισμένα περιλαίμια σκύλου προκάλεσε μείωση από 53% σε 59% στο ποσοστό επίπτωσης CVL μολυσμένων φλεβοτόμων (Kazimoto et al., 2018). Επιπλέον, μη χρήση αντιπαρασιτικών κολάρων σε σκυλιά έδειξαν υψηλότερη συχνότητα συμπτωμάτων, με ταχύτερη εξέλιξη σε σύγκριση με τα σκυλιά με κολάρο (Foglia Manzillo et al., 2006), παρουσιάζοντας έναν ενδιαφέροντα συνδυασμό ελέγχου ασθενειών και οικονομικής αποδοτικότητας (Shimozako et al., 2017). Ένα άλλο πυρεθροειδές τύπου II, το Flumethrin, που εφαρμόστηκε με τοπική εφαρμογή σε σκύλους οδήγησε σε σημαντική μείωση του συνολικού ποσοστού θνησιμότητας και στον δείκτη αιμοστασίας των αμμοτροφών (Jalilnavaz et al., 2016). Επιπλέον, η χρήση του συστηματικού εντομοκτόνου Fluralaner (Gomez and Picado, 2017; Miglianico et al., 2018) που χρησιμοποιείται σε σκύλους, έχει δείξει άυξηση τη θνησιμότητας των φλεβοτόμων κατά 40-60% (Gomez

et al., 2018a) (Gomez et al., 2018b). Επίσης, ο εμβολιασμός οδήγησε σε σημαντική μείωση της λοίμωξης από *Phlebotomus perniciosus* (Bongiorno et al., 2013).

1.4 Εργαστηριακά Ευρήματα

Η εργαστηριακή ανάλυση παραμέτρων που σχετίζονται με την αιμοποίηση, τη νεφρική λειτουργία και το ηλεκτροφορητικό προφίλ ορού πρέπει να χρησιμοποιείται στην κλινική ρουτίνα ως συμπληρωματικό εργαλείο στη διάγνωση. Η έντονη πολυκλωνική χυμική απόκριση που εμφανίζεται μετά τη μόλυνση προκαλεί ορατές αλλαγές στο ηλεκτροφορητικό προφίλ πλάσματος και συμβάλλει στην εμφάνιση βλάβης οργάνων, όπως νεφρά, μάτια και δέρμα. Επιπλέον, υψηλά φορτία παρασίτων στα συστατικά του μονοπυρηνικού φαγοκυτταρικού συστήματος (MPS), για παράδειγμα, στο μυελό των οστών και στο ήπαρ, προκαλώντας την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων που σχετίζεται με τις ηπατικές και αιματοποιητικές λειτουργίες (Ribeiro R. R., 2013).

Η αναιμία είναι ένα από τα κύρια εργαστηριακά ευρήματα στο αιμόγραμμα. Είναι πιθανό ότι περισσότεροι από ένας παράγοντες εμπλέκονται στην αιτιολογία της αναιμίας, όπως αιμορραγία, αιμόλυση, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, υποπλασία μυελού των οστών ή απλασία και μειωμένη ρευστότητα λιπιδίων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων (Ribeiro R. R., 2013, Burillo F. L, 1994, De Luna R, 2000). Το γεγονός ότι το 50 έως 70% των ασθενών παρουσιάζουν διάφορων τύπων αναιμίας υποδηλώνει, τη συμμετοχή χρόνιων φλεγμονωδών νόσων ή διαταραχών της ερυθροποίησης λόγω μεταβολών που προκαλούνται από τη μόλυνση στο μυελό των οστών και στα νεφρά (Ribeiro R. R., 2013). Προφανώς, υπάρχει σχέση μεταξύ αναιμίας και κλινικών μορφών της νόσου (Ribeiro R. R., 2013, Amusatogui I., 2003, Reis A. B 2006). Η δυσλειτουργία του μυελού των οστών δεν περιλαμβάνει συνήθως πρόδρομα κύτταρα λευκοκυττάρων (Ribeiro R. R., 2013, Amusatogui I., 2003), αν και δερματολογικές βλάβες που συνοδεύονται από δευτερογενείς βακτηριακές λοιμώξεις ή άλλες συννοσηρότητες μπορούν να το κάνουν.

Η δυσπρωτεϊναιμία θεωρείται μία από τις σημαντικότερες αλλαγές στη νόσο (Ribeiro R. R., 2013). Η ανισορροπία πρωτεϊνών αντιπροσωπεύεται από την αύξηση των συνολικών πρωτεϊνών του ορού (υπερπρωτεϊναιμία), υπεργλοβουλιναίμια και υπολευκωματιναιμία η οποία καθορίζει επίσης την αντιστροφή στην αναλογία

λευκωματίνης/σφαιρίνης. Η υπερσφαιριναιμία είναι αποτέλεσμα της διακριτής ή σπάνιας αύξησης των κλασμάτων α και β που συνοδεύεται από σημαντική αύξηση των γ -σφαιρινών, προσδιορίζοντας την υπεργαμμασφαιριναιμία. Η μείωση των επιπέδων λευκωματίνης είναι εν μέρει αποτέλεσμα της νεφρικής απέκκρισης λόγω της πειραματικής βλάβης που προκαλείται κατά τη διάρκεια της νόσου και της χαμηλής παραγωγής από το ήπαρ σε περιπτώσεις ηπατικής ανεπάρκειας.

Το CanL συχνά χαρακτηρίζεται από αύξηση των συνολικών πρωτεϊνών του ορού (υπερπρωτεϊναιμία), αζωτεμία, υπεργαμμασφαιριναιμία (πολυκλωνική απόκριση Β κυττάρων), υπολευκωματιναιμία (νεφρική ή/και ηπατική ανεπάρκεια) (Paltrinieri S., 2016), αφού αναγνωρίζεται ότι η νεφρική βλάβη που σχετίζεται με τη νόσο είναι σχεδόν αναπόφευκτη γεγονός που ενισχύει το γεγονός ότι αυτές οι παράμετροι αποτελούν καλούς δείκτες για διάγνωση και θεραπευτική παρακολούθηση.

Η νεφρική νόσος στο CanL μπορεί να εκδηλωθεί ως ήπια πρωτεϊνουρία έως νεφρωσικό σύνδρομο ή χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, στην οποία υπάρχει πειραματονεφρίτιδα που συνήθως σχετίζεται με την εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων στα νεφρά. Η δραστηριότητα των ηπατικών ενζύμων είναι γενικά εντός των τιμών αναφοράς για τα είδη σκύλων, αν και τα βιοχημικά ευρήματα σε μολυσμένα σκυλιά μπορεί να περιλαμβάνουν αλλαγές στην ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, αμινοτρανσφεράση αλανίνης και αλκαλική φωσφατάση (Paltrinieri S., 2016, Heidarpour M, 2012).

1.5 Κατανομή και Επιδημιολογία

Οι κοινωνικοοικονομικοί και πιθανοί κλιματικοί παράγοντες έχουν οδηγήσει σε αλλαγές στην κατανομή του CanL στην Ευρώπη (Εικόνα 1.5.1). Η μόλυνση *Leishmania infantum* έχει εξαπλωθεί βόρεια φτάνοντας στους πρόποδες των Άλπεων στη βόρεια Ιταλία (Maroli M, 2008) και στα Πυρηναία στη Γαλλία (Chamaille L, 2010) και τη βόρεια Ισπανία (Amusatogui I, 2004). Ο μεγάλος αριθμός σκύλων που ταξίδευαν στη νότια Ευρώπη ή εισήχθησαν ως ζώα συντροφιάς από περιοχές όπου το CanL είναι ενδημικό αύξησαν τον αριθμό των κλινικών περιπτώσεων που αναφέρθηκαν σε μη ενδημικές χώρες όπως το Ηνωμένο Βασίλειο (Shaw SE, 2009) και η Γερμανία (Menn B, 2010).



Εικόνα 1.5.1 Η κατανομή της λοίμωξης από σκύλο *L. infantum* στην Ευρώπη.

Η *Leishmania infantum* ακολουθεί συχνά ένα ύπουλο και χρόνιο μοτίβο μόλυνσης (Peters N, 2006). Ως εκ τούτου, το CanL είναι μια ασθένεια στην οποία η μόλυνση δεν ισούται με την κλινική ασθένεια με αποτέλεσμα τον υψηλό επιπολασμό της υποκλινικής λοίμωξης (Solano-Gallego L 2001).

Ένα ευρύ φάσμα ανοσολογικών αποκρίσεων και κλινικών εκδηλώσεων έχει περιγραφεί στο CanL (Εικόνα 1.5.2). Η μόλυνση σε σκύλους μπορεί να είναι υποκλινική ή να εκδηλώνεται ως αυτοπεριοριζόμενη ασθένεια ή ως σοβαρή, και μερικές φορές, θανατηφόρα ασθένεια όπως έχουμε προαναφέρει παραπάνω (Solano-Gallego L, 2009). Η υποκλινική λοίμωξη δεν είναι απαραίτητως μόνιμη και παράγοντες όπως η ανοσοκαταστολή ή οι συνακόλουθες ασθένειες θα μπορούσαν να σπάσουν την ισορροπία και να οδηγήσουν στην εξέλιξη της κλινικής νόσου στους σκύλους (Solano-Gallego L, 2009) όπως παρατηρήθηκε σε ανθρώπους που έχουν μολυνθεί από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και τη Λεϊσμάνια (Alvar J, 2008).



Εικόνα 1.5.2Κλινικές εκδηλώσεις και ανοσολογικά χαρακτηριστικά της μόλυνσης *L. infantum* σε σκύλους.

Έχουν περιγραφεί διάφοροι προδιαθεσικοί παράγοντες για την ανάπτυξη της νόσου, συμπεριλαμβανομένης της φυλής, της ηλικίας και του γενετικού υποβάθρου. Ορισμένες φυλές σκύλων όπως το Boxer, το Cocker Spaniel, το Rottweiler και το German Shepherd φαίνεται να είναι πιο επιρρεπείς στην ανάπτυξη της νόσου (Sideris V, 1999, Franca-Silva JC, 2003) ενώ άλλες όπως το Ibizaian Hound σπάνια αναπτύσσουν κλινικά σημεία του CanL (Solano-Gallego L 2000). Το γονίδιο *Slc11c1* (Solute carrier family 11 μέλη a1), που παλαιότερα ονομαζόταν N-RAMPI, και ορισμένα αλληλόμορφα των γονιδίων MHC II έχουν συσχετιστεί με ευαισθησία στο CanL (Quinnell RJ, 2003, Sanchez-Robert E, 2008). Η ηλικία φαίνεται να είναι σημαντικός παράγοντας. Η κατανομή της νόσου αφορά δύο ηλικίες με τον υψηλότερο επιπολασμό να αναφέρεται σε σκύλους μικρότερους των 3 ετών και άνω των 8 ετών (Cardoso L, 2004).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

2.1 Κυνοειδής και Ανθρώπινη Λεισμανίαση

Οι σκύλοι θεωρούνται οι κύριες δεξαμενές του *L. infantum* και για το λόγο αυτό αποτελούν στόχο προγραμμάτων ελέγχου σε ορισμένες χώρες, όπου αναφέρονται περίπου 3500 ανθρώπινα κρούσματα ζωονοσολογικής νόσου κάθε χρόνο (Brasil 2016). Αντίθετα σε κάποιες χώρες της Μεσογείου, αναφέρονται περίπου 875 ανθρώπινα κρούσματα ετησίως (Chaabouni, A. 2018). Ωστόσο, αν και το CanL πιστεύεται ότι είναι πολύ διαδεδομένο σε πολλές χώρες, κυρίως στη Νότια Αμερική και στην περιοχή της Μεσογείου, δεν υπάρχει προς το παρόν ακριβής αναφορά της πραγματικής κατανομής και συχνότητάς του. Με βάση ορολογικές έρευνες, εκτιμήθηκε στο παρελθόν ότι πάνω από 2,5 εκατομμύρια σκύλοι μολυσμένοι με *L. infantum* υπάρχουν στη νότια Ευρώπη (Da Silva, 2017). Από αυτούς τους αριθμούς, η διάχυτη μόλυνση των σκύλων με *L. infantum* δεν συνεπάγεται απαραίτητα υψηλότερη επίπτωση της νόσου στους ανθρώπους. Είναι σημαντικό ότι τα αδέσποτα σκυλιά που δεν αντιμετωπίζονται με κατάλληλα προληπτικά μέτρα (π.χ. κολάρα εμποτισμένα με εντομοκτόνα) ενδέχεται να παίζουν ρόλο στη διατήρηση του CanL, σε περιοχές όπου η νόσος είναι ενδημική. Σε ορισμένες ευρωπαϊκές χώρες, η ύπαρξη κυνομομείων όπου τα σκυλιά διατηρούνται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό εμπόδιο στον έλεγχο της CanL. Υπό αυτές τις συνθήκες, εστίες του CanL μπορεί εύκολα να εμφανιστούν με μόλυνση έως και 35% των σκύλων που εκτίθενται σε δαγκώματα σκνίπας κατά τη διάρκεια μιας μόνο σεζόν (Dos Santos Nogueira, 2019). Αυτή η εικόνα τονίζει πόσο ζωτικής σημασίας είναι ο έλεγχος του CanL με διαφορετικές προσεγγίσεις σύμφωνα με την επιδημιολογία της νόσου σε μια δεδομένη περιοχή και τις δυσκολίες που ενυπάρχουν στις τοπικές συνθήκες (Ferreira, J. H. L., 2014).

2.2 Δυσκολίες στον Καθορισμό Σχεδίων Ελέγχου

Ο έλεγχος του CanL είναι ένα δύσκολο έργο λόγω του πολύπλοκου κύκλου μετάδοσης του *L. infantum*. Με βάση τις τρέχουσες γνώσεις και λαμβάνοντας υπόψη τα διαθέσιμα εργαλεία, ο περιβαλλοντικός έλεγχος των ανώριμων φλεβοτόμων είναι ανέφικτος, επειδή είναι εξαιρετικά μεταβλητές, συμπεριλαμβανομένων, για παράδειγμα, ριζών δέντρων, λαγούμια ζώων, φυλλώματα που αποσυντίθενται και τρύπες δέντρων (Giunchetti, R. C 2019). Ομοίως, τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι ο ψεκάσμος για τον έλεγχο ενήλικων σκνιπών είναι άχρηστος και ότι η υπολειπόμενη επίδραση του ψεκάσμου τοίχων σπιτιού είναι πολύ σύντομη (Gomez, S. A., 2017), καθιστώντας τον υπολειπόμενο ψεκάσμό σπιτιών μη πρακτικό και αναποτελεσματικό, ιδιαίτερα σε αγροτικές περιοχές (Gradoni, L 2015).

Η σωστή εκτίμηση της κατάστασης μόλυνσης των σκύλων είναι θεμελιώδης για τον καλύτερο προσδιορισμό των ενεργειών που πρέπει να ληφθούν, για την έναρξη της θεραπείας στα αρχικά στάδια της νόσου και για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας των μέτρων ελέγχου. Σε περιοχές όπου το *L. infantum* είναι διαδεδομένο, τα περισσότερα σκυλιά και άτομα που εκτίθενται σε σκνιπες και μύγες άμμου θα έρθουν σε επαφή με το παράσιτο, αλλά θα παραμείνουν ασυμπτωματικά (Gupta, G. 2013). Αν και τα ασυμπτωματικά σκυλιά μπορεί να είναι μολυσματικά στις σκνιπες και τις μύγες άμμου (Heidarpour, M., 2012), ο ρόλος των ασυμπτωματικών ανθρώπων στην επιδημιολογία της VL δεν έχει ακόμη εξακριβωθεί (Jacintho, A. P. P., 2018). Αξίζει να σημειωθεί ότι η οριστική διάγνωση της λοίμωξης *L. infantum* σε ασυμπτωματικούς σκύλους και ανθρώπους είναι συχνά σύνθετη λόγω των εγγενών περιορισμών των ορολογικών και παρασιτολογικών μεθόδων (Jalilnavaz, M. R., 2016). Για παράδειγμα, ο έλεγχος του ορού μπορεί να μην είναι καλός δείκτης μόλυνσης λόγω των μεταβολών που μπορεί να υποστεί ο ορός στη διάρκεια του χρόνου. Επιπλέον, το κόστος που συνδέεται με τη συστηματική ορολογική εξέταση σκύλων μπορεί να είναι δύσκολο να αντιμετωπιστεί από τις τοπικές αρχές δημόσιας υγείας, ειδικά σε μεγάλες χώρες όπως η Βραζιλία όπου ο αριθμός των σκύλων που ζουν σε περιοχές με υψηλό ποσοστό μόλυνσης μπορεί να είναι τεράστιος (Jalilnavaz, M. R., 2016). Αντίθετα, η μικροσκοπική εξέταση χρωματισμένων επιχρισμάτων (π.χ. λεμφαδένων και μυελού των οστών) είναι μια

απλή μέθοδος, αλλά έχει χαμηλή ευαισθησία, ιδιαίτερα σε ασυμπτωματικούς σκύλους, ενώ μοριακές μέθοδοι, αν και τα πιο ευαίσθητα και ειδικά, συχνά έχουν απαγορευτικό κόστος (Kazimoto, T. A. 2018). Τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν σαφώς ότι δεν υπάρχει χρυσό πρότυπο για τον εντοπισμό λοιμώξεων από *Leishmania* σε ασυμπτωματικούς σκύλους (Kazimoto, T. A. 2018), υποδεικνύοντας ότι απαιτούνται βελτιωμένες διαγνωστικές εξετάσεις.

2.3 Διάγνωση

Για να βελτιωθεί η πρόγνωση και να αποφευχθεί η μετάδοση από άνθρωπο και σκύλο (από ψευδώς αρνητικά περιστατικά) και περιττή ευθανασία (από ψευδώς θετικά περιστατικά), η διάγνωση θα πρέπει να τεθεί το συντομότερο δυνατό, ακόμη και με βάση μόνο λίγα ή ακόμη και ένα μόνο κλινικό σύμπτωμα (Gharbi M., 2015). Η διάγνωση τίθεται λαμβάνοντας υπόψη την επιδημιολογική προέλευση και το σύνολο των κλινικών σημείων που παρουσιάζει ο σκύλος (Solano-Gallego L 2011). Λόγω του μεγάλου αριθμού ασυμπτωματικών σκύλων και της απουσίας παθογνωμονικών κλινικών σημείων, η διάγνωση εξαρτάται από την εργαστηριακή υποστήριξη. Όλες οι παρασιτολογικές, ανοσολογικές και μοριακές τεχνικές που διατίθενται για διάγνωση είναι σημαντικές και πρέπει να ερμηνευτούν σύμφωνα με τα οφέλη και τους περιορισμούς τους.

Η παρασιτολογική διάγνωση είναι η μοναδική οριστική μέθοδος, η οποία συχνά βασίζεται σε παρατηρήσεις αμαστιγώτων, κατά προτίμηση σε λεμφοειδή όργανα όπως ο μυελός των οστών, οι λεμφαδένες και ο σπλήνας, καθώς και το ήπαρ και το δέρμα. Στην κλινική ρουτίνα, ένα δείγμα που λαμβάνεται με βιοψία δέρματος επιτρέπει την παρασκευή πλακών για κυτταρολογικές και ιστοπαθολογικές/ανοσοϊστοχημικές τεχνικές (Tafuri W. L 2001). Η βιοψία αναρρόφησης από λεμφαδένες, μυελό των οστών ή σπλήνα μπορεί να αξιολογηθεί με επιχρίσματα βαμμένα με μεθόδους Giemsa ή Panoptic και, πιο σπάνια, σε μέσα καλλιέργειας (NNN, LIT και α-MEM, μεταξύ άλλων). Η ευαισθησία του επιχρίσματος μυελού των οστών είναι περίπου 60-85% και 30-40% για τους λεμφαδένες (Sundar S., 2002).

Οι μοριακές τεχνικές έχουν υψηλή ευαισθησία και εξειδίκευση, και η PCR και η qPCR αποτελούν προς το παρόν μέρος της κτηνιατρικής διαγνωστικής ρουτίνας, οι

οποίες είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για παρακολούθηση και μπορούν να εκτελεστούν σε διάφορα βιολογικά δείγματα, όπως περιφερικό αίμα, αναρρόφηση μυελού των οστών ή λεμφαδένες, τεμάχιο δέρματος και άλλα (Solano-Gallego L., 2011, (Silva R. C 2017, Solano-Gallego L., 2007). Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι πληροφορίες που παρέχονται με PCR/qPCR δεν πρέπει να διαχωρίζονται από τα δεδομένα που λαμβάνονται από κλινικοπαθολογικές και ορολογικές αξιολογήσεις (Solano-Gallego L., 2011).

Η CanL διαγιγνώσκεται συχνά μέσω της ανίχνευσης ειδικών αντισωμάτων κατά της *Leishmania* sp., Κατά προτίμηση χρησιμοποιώντας ποσοτικές ορολογικές τεχνικές όπως δοκιμή αντισωμάτων ανοσοφθορισμού (IFAT) και ενζυμικά συνδεδεμένη ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA). Ωστόσο, οι ορολογικές εξετάσεις παρουσιάζουν σημαντικούς περιορισμούς, όπως διασταυρούμενες αντιδράσεις με παράσιτα Τρυπανοσώματος, είδη δερματικής λεισμανίασης και άλλα αιμοπαράσιτα (Ferreira E. D. C. 2007, Pozzetti R. 2007), καθώς και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις ανοσολογικής αδράνειας ή χαμηλούς τίτλους (αμφίβολες αντιδράσεις) (Lopes E. G., 2017).

Πρόσφατα, ανοσοχρωματογραφικές δοκιμασίες έχουν χρησιμοποιηθεί ως εργαστηριακές δοκιμές ρουτίνας σε κτηνιατρικές κλινικές για την ανίχνευση και άλλων ασθενειών συμπεριλαμβανομένου του CanL. Αυτές οι δοκιμές είναι γρήγορες και εύκολες (περίπου 15 λεπτά), δεν απαιτούν εκπαιδευμένο προσωπικό ή εξειδικευμένη εργαστηριακή εκπαίδευση για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και παρουσιάζουν αξιόπιστους δείκτες ευαισθησίας και ειδικότητας. Για το CanL, συνήθως ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες του παρασίτου, όπως το rK39, εμποτίζονται σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης και τα δείγματα ορού εφαρμόζονται στην πλατφόρμα ταχείας δοκιμής (Fraga D. 2016).

Η πιο συχνά επιλεγμένη θεραπεία για το CanL είναι η αντιμονιακή μεγλουμίνη (πενταδύναμη αντιμονιακή) χορηγούμενη υποδορίως σε δόση 100 mg/kg μία φορά την ημέρα για 1 μήνα μαζί με αλλοπουρινόλη (λεισμανοστατικό φάρμακο) χορηγούμενη από το στόμα 10 mg/kg κάθε 12 ώρες για τουλάχιστον έξι μήνες (Solano-Gallego L. 2011, Manna L., 2015, Solano-Gallego L. 2016). Η διάρκεια της θεραπείας εξαρτάται από τη σοβαρότητα της νόσου, την ατομική ανοχή στα φάρμακα και την κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία. Υπάρχουν επίσης αρκετές παρενέργειες,

όπως η ξανθινουρία, και η ουρολιθίαση σε περίπτωση μακροχρόνιας θεραπείας με αλλοπουρινόλη και η αντιμονιατική μεγλουμίνη μπορεί να είναι δυνητικά νεφροτοξική και η μιλτεφοσίνη μπορεί να προκαλέσει γαστρεντερικές διαταραχές (Solano-Gallego L. 2011, Solano-Gallego L 2007, Torres M., 2016).

Ορισμένες θεραπείες που βασίζονται σε ανοσοτροποποιητές, όπως η δομπεριδόνη, μπορούν να ενισχύσουν τους εγγενείς αμυντικούς μηχανισμούς, ενεργοποιώντας τα φαγοκύτταρα και ενισχύοντας την ενδοκυτταρική θανάτωση των παρασίτων, γεγονός που μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη του CanL και να μειώσει τον κίνδυνο ανάπτυξης της κλινικής νόσου (Sabaté D., 2014). Μια μελέτη κατέγραψε την παρασιτολογική θεραπεία των σκύλων με VL που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μια καινοτόμο συνδυασμένη θεραπεία με αντιμονιατική μεγλουμίνη και αλλοπουρινόλη (Da Silva S. M, 2012).

Η γνώση σχετικά με τις σχέσεις ξενιστή -παρασίτου στα σκυλιά αυξάνεται και σηματοδοτεί την ύπαρξη εγγενών παραγόντων για τον ξενιστή, όπως ανοσολογικές διαφορές ως απάντηση σε λοίμωξη, που θα επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Με αυτό κατά νου, οι ερευνητικές ομάδες αναζητούν τη θεραπεία των σκύλων μέσω νέων σκευασμάτων υφιστάμενων φαρμάκων ή συνδέοντάς τα με ανοσοδιεγερτικά και ανοσοθεραπευτικά. Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν δείχνουν βελτιωμένη θεραπεία στο μέλλον.

2.4 Πρόληψη και Έλεγχος

Λαμβάνοντας υπόψη ότι το τσίμπημα θηλυκής σκνίπας είναι ο πιο σημαντικός τρόπος μετάδοσης του CanL, τα μέτρα ελέγχου της μόλυνσης θα πρέπει να επικεντρωθούν κυρίως στην πρόληψη της επαφής με τον φορέα εντόμων, είτε μέσω φυσικών φραγμών (λεπτό πλέγμα στα παράθυρα και εκτροφεία), χημικών φραγμών (απωθητικά), ή χειρισμός (αποφυγή έκθεσης της βραδινές ώρες , εξάλειψη οργανικού περιθωριακού υλικού). Προβλέποντας μια μεγάλη πιθανότητα αποτυχίας αυτών των μέτρων, ο σκύλος πρέπει να είναι σε θέση να ανταποκριθεί στην πρόκληση μόλυνσης που προκαλείται από τα τσιμπήματα μολυσμένων φλεβοτόμων, κατά προτίμηση από μια προσαρμοστική ανοσοαπόκριση που αναπτύχθηκε προηγουμένως μέσω του εμβολιασμού ή ως τελευταία εναλλακτική λύση, από

χημειοθεραπευτικά, τα οποία μπορούν να ενισχύσουν το ανοσοποιητικό σύστημα για να βοηθήσουν στην καταπολέμηση της λοίμωξης.

Τα απωθητικά προϊόντα που διατίθενται για την πρόληψη του CanL περιέχουν συνθετικά πυρεθροειδή (δελταμεθρίνη, περμεθρίνη ή φλουμεθρίνη) μόνα τους ή σε συνδυασμό με άλλα εντομοκτόνα, γεγονός που επιδεικνύει συνεργιστική επίδραση στα έντομα. Το προστατευτικό αποτέλεσμα από τις μύγες της άμμου μετά τη χρήση μπορεί να κυμαίνεται από 2-4 εβδομάδες σε σκευάσματα επιτόπου έως 4-8 μήνες σε εμποτισμένα περιλαίμια PVC, τα οποία πρέπει να χρησιμοποιούνται τόσο σε μη μολυσμένα όσο και σε μολυσμένα σκυλιά (Davoust B. 2013- Wylie C. E., 2014).

Ο εμβολιασμός κατά της CanL είναι ένα πρόσφατο εργαλείο για τους ιδιοκτήτες κατοικίδιων ζώων και δυστυχώς τα δύο διαθέσιμα εμπορικά εμβόλια έχουν χαμηλή προστατευτική αποτελεσματικότητα περίπου 68-71% (Palatnik-de-Sousa C. B., 2012,).

Δεν υπάρχει καμία επιστημονική απόδειξη ότι η οροθετική ευθανασία σκύλου θα μπορούσε να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης VL (Romero G. A. S 2010), και όπου κι αν αυτό έχει εφαρμοστεί (π.χ., η Βραζιλία και οι χώρες των Βαλκανίων και της Κεντρικής Ασίας), τα εθνικά προγράμματα ελέγχου VL έχουν αποτύχει. Επομένως, ο εμβολιασμός κατά της Leishmania που σχετίζεται με τοπικά εντομοκτόνα είναι αναμφίβολα, η πιο αποτελεσματική μορφή πρόληψης και ελέγχου της CanL.

2.5 Εμβόλια κατά της Λεισμανίασης

Το εμβόλιο κατά τις λεισμανίας αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα μετρα πρόληψης για την υγεία του σκύλου. Η εμφάνισή του τα τελευταία χρόνια είναι μεγάλης αξίας, συντελώντας δραστικά στην αποφυγή μόλυνσης από τη νόσο, καθώς και τη μείωση των συμπτωμάτων

Μετά από 2 χρόνια εμβολιασμού μιας ομάδας 550 εμβολιασμένων σκύλων, μόνο το 1% των ζώων πέθανε από CVL και το 1,2% ήταν συμπτωματικά. Ταυτόχρονα, το 39% των θανάτων και το 20,6% των συμπτωματικών περιπτώσεων ανιχνεύθηκαν μεταξύ μη εκτεθειμένων ζώων ελέγχου ($p < 0,005$; Borja-Cabrera et al., 2008). Το εμβόλιο λειτουργεί προφυλακτικά έναντι της λεισμανίασης του σκύλου, προστατεύει το 98% των εμβολιασμένων σκύλων (Borja-Cabrera et al., 2008), και μειώνει το

παρασιτικό φορτίο που είναι προσβάσιμο για μετάδοση από τις σκνίπες, όπως αποκαλύπτεται από τα αρνητικά αποτελέσματα της PCR για DNA *Leishmania* στο αίμα και τους λεμφαδένες και αρνητικές αντιδράσεις ανοσοϊστοχημείας στο δέρμα (Nogueira et al., 2005). Τα αντισώματα που δημιουργούνται εμποδίζουν τη μετάδοση της νόσου από σκνίπες και μύγες άμμου στο πεδίο (Saraiva et al., 2006; Palatnik-de-Sousa et al., 2008). Πράγματι, ενώ οι σκνίπες και οι μύγες άμμου που τρέφονταν με προ-ανοσοποιητικούς ορούς έδειχναν υψηλότερο ποσοστό μόλυνσης και αριθμό παρασίτων/εντόμων, δίνοντας υψηλό δείκτη μόλυνσης, οι σκνίπες και οι μύγες άμμου που τρέφονταν με ορούς (κυρίως αντισώματα αντι-FML IgG2) παρουσίασαν μείωση 74,3% μόλυνσης (Saraiva et al., 2006). Από την άλλη πλευρά, σε σύγκριση με τους αντίστοιχους προ-ανοσοποιητικούς ελέγχους, οι σκνίπες και οι μύγες άμμου που τρέφονταν με ορούς μολυσμένων ζώων (κυρίως αντισώματα IgG1) έδειξαν μια έντονη ενίσχυση της μόλυνσης (331,9%· Palatnik-de-Sousa et al., 2008). Τα δύο μολυσμένα σκυλιά που εμφάνισαν θετική ξενοδιάγνωση ήταν τα πιο συμπτωματικά (περισσότερα από τρία κλινικά σημεία) μεταξύ των εννέα που δοκιμάστηκαν, ενώ τα άλλα επτά ήταν ασυμπτωματικά ή ολιγοσυμπτωματικά (Palatnik-de-Sousa et al., 2008; de Amorim et al., 2010). Η απόκριση αντι-FML αντισωμάτων που προκαλείται από το εμβόλιο είναι κυρίως του υποτύπου IgG2 (Mendes et al., 2003). Επίσης το εμβόλιο που έχει σχηματιστεί με διπλή συγκέντρωση επικουρικής σαπωνίνης έχει θεραπευτικό αποτέλεσμα κατά της φυσικής (Bojja-Cabrera et al., 2004) ή πειραματικά αποκτημένο ZVL (Santos et al., 2007).

Εγκεκριμένα εμβόλια αντι-Leishmania

Εμπορική ονομασία (παρασκευαστής)	Σύνθεση		Διαθεσιμότητα	Πρωτόκολλο εμβολίου	Πρωτόκολλο εμβολίου	Αποτελεσματικότητα του εμβολίου	Διαγνωστική παρεμβολή σχετιζόμενη με το εμβόλιο
	Αντιγόνο	Ανοσο-ενισχυτικό					
Leishmune® (Zoetis)	Συνδέτης φοουκόζης-μαννόζης (FML)	QuilA	Βραζιλία ^a	Τρεις δόσεις βασικού εμβολιασμού (SC), μεσοδιαστήματα 21 ημερών· μία ετήσια επαναληπτική δόση	Κλινική νόσος	80%	Ανίχνευση εμβολιακών αντισωμάτων με επίσημες δοκιμασίες (DPP®, ELISA, IFAT). Δεν ανιχνεύονται αντισώματα μετά από 45 ημέρες από την πρώτη ετήσια επαναληπτική δόση μέσω FAST ή DAT
CaniLeish® (Virbac Santé Animale)	LiESP	QA-21	Ευρώπη, Αργεντινή, Παραγουάη	Τρεις δόσεις βασικού εμβολιασμού (SC), μεσοδιαστήματα 21 ημερών· μία ετήσια επαναληπτική δόση	Ενεργή λοίμωξη ^β	68.4%	Ανίχνευση εμβολιακών αντισωμάτων με ποσοτικές δοκιμασίες (ELISA, IFAT). Σπάνια ανίχνευση εμβολιακών αντισωμάτων με Speed Leish K™
Leish-Tec® (Hertape Calier Saúde Animal)	A2	Σαπωνίνη	Βραζιλία	Τρεις δόσεις βασικού εμβολιασμού (SC), μεσοδιαστήματα 21 ημερών· μία	Ανίχνευση παρασίτου	71.4%	Ανίχνευση εμβολιακών αντισωμάτων με επίσημη δοκιμασία ELISA

				ετήσια επαναληπτική δόση			
Letifend® (Laboratorios Leti)	Πρωτεΐ νη Q	Κανένα	Ευρώπη	Μία δόση βασικού εμβολιασμού (SC)· μία ετήσια επαναληπτική δόση	Κλινική νόσος	72%	Καμία ανίχνευση εμβολιακών αντισωμάτων μέσω ποσοτικών δοκιμασιών (IFAT, ELISA) ή δοκιμασιών ταχείας διάγνωσης

Συντομογραφίες: DAT: δοκιμασία άμεσης συγκόλλησης· ELISA: δοκιμασία ενζυματικής ανοσοαπορρόφησης· FAST: ταχεία ποιοτική δοκιμασία συγκόλλησης· IFAT: δοκιμασία αντισωμάτων ανοσοφθορισμού· LiESP: απεκκρινόμενες-εκκρινόμενες πρωτεΐνες *Leishmania infantum*· SC: υποδόριος. α Μέχρι σήμερα δεν κυκλοφορεί στην αγορά. β Ενεργή λοίμωξη καθορίστηκε ως η ανίχνευση ανάπτυξης του παρασίτου σε ιστοκαλλιέργεια από PCR-θετικούς σκύλους, ακολουθούμενη σύντομα από την αύξηση των τίτλων IFAT.

2.6 Συμβατική Θεραπεία της Λεισμανίασης

Η θεραπεία της CVL χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά υποτροπής, ανεξάρτητα από τα αντιλειτουργικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται, είτε ως ένα μόνο φάρμακο είτε σε συνδυασμένη φαρμακευτική θεραπεία (Ribeiro et al., 2018). Επιπλέον, σπάνια επιτυγχάνεται κλινική και παρασιτολογική θεραπεία, για να μην αναφέρουμε την πιθανότητα αντοχής στα φάρμακα (Travi, 2014; Marcondes and Day, 2019).

Η φαρμακευτική ουσία μιλεφοσίνη χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως αντικαρκινικός παράγοντας στη δεκαετία του 1990 και καταγράφηκε για πρώτη φορά για θεραπεία VL το 2002 στην Ινδία (Dorlo et al., 2012). Το 2016, το Υπουργείο Υγείας της Βραζιλίας και το Υπουργείο Γεωργίας Κτηνοτροφίας και Προμήθειας ενέκριναν την εγγραφή του φαρμάκου (Virbac, Βραζιλία) (Βραζιλία, 2016). Αν και υπήρξε αξιοσημείωτη βελτίωση στα κλινικά συμπτώματα κατά τη χρήση αυτού του φαρμάκου, δεν συνοδεύτηκε από παρασιτολογική κάθαρση (Andrade et al., 2011). Πρόσφατα, η θεραπεία με μιλεφοσίνη κατά του CVL αποκάλυψε κλινική βελτίωση με μείωση της μολυσματικότητας από σκύλους μολυσμένους με *L. infantum* (Dos Santos Nogueira et al., 2019).

Η αλλοπουρινόλη έχει παρασιτοστατική δράση και η μακροχρόνια χορήγησή της διατηρεί χαμηλά φορτία παρασίτων, συμβάλλοντας έτσι στην πρόληψη της υποτροπής του σκύλου (Koutinas et al., 2001). Η συσχέτιση αυτού του φαρμάκου με τη μιλτεφοσίνη έδειξε ότι είναι ένας πολλά υποσχόμενος συνδυασμός για θεραπεία CVL (Foglia Manzillo et al., 2009). Ωστόσο, η επαγόμενη αντίσταση είναι επίσης ένα πρόβλημα που σχετίζεται με τη χρήση αλλοπουρινόλης (Yasur-Landau et al., 2017).

Στα περισσότερα μέρη του κόσμου, η αντιμονιατική μεγλουμίνη είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη θεραπεία για τη λεϊσμανίαση των ανθρώπων και των σκύλων. Η αντιμονιακή μεγλουμίνη, σε συνδυασμό με αλλοπουρινόλη, θεωρείται η πιο αποτελεσματική θεραπεία για CVL (Solano-Gallego et al., 2009). Ωστόσο, η θεραπεία CVL με τα ίδια φάρμακα που χρησιμοποιούνται από τον άνθρωπο δεν συνιστάται, καθώς μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στα παράσιτα (Travi, 2014).

Η μεγάλη πρόκληση της θεραπείας CVL είναι η ανακάλυψη ενός φαρμάκου που:

(i) δεν χρησιμοποιείται στη θεραπεία VL σε ανθρώπους, (ii) δεν προκαλεί βλάβη στα νεφρά ή οποιαδήποτε άλλη αρνητική επίδραση, (iii) παρέχει έλεγχο φορτίου παρασίτων, (iv) παρεμβαίνει στον κύκλο ζωής των αμμοβολών και (v) εμποδίζει τη μετάδοση των παρασίτων. Με αυτή την έννοια, θα πρέπει να μελετηθούν άλλες θεραπευτικές επιλογές, όπως η ανοσοθεραπεία, σε μια προσπάθεια βελτίωσης της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με CVL.

2.7 Speed Test Leish

- ❖ Μέθοδος: Ανοσοχρωματογραφία μεμβράνης
- ❖ Ανάλυση: Ανίχνευση αντισωμάτων κινεσίνης κατά της *Leishmania infantum*
- ❖ Δείγμα: Ολικό αίμα με αντιπηκτικό, ορό, πλάσμα
- ❖ Προετοιμασία: 2 λεπτά
- ❖ Ανάγνωση: 15 λεπτά
- ❖ Αποθήκευση: 24 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου (2 ° C - 30 ° C)
- ❖ Αξιοπιστία: Σε σύγκριση με την τεχνική αναφοράς, έμμεσος ανοσοφθορισμός:
- ❖ Ευαισθησία: 98%
- ❖ Ειδικότητα: 100% (CHENE J. 2010)

Η συγκεκριμένη ανίχνευση κυκλοφορούντων αντισωμάτων που κατευθύνονται κατά των κινεσίνων του *Leishmania infantum* χρησιμοποιώντας το εξαιρετικά ευαίσθητο σύμπλεγμα Kinesin Capture Complex παρέχει μια ακριβή διάγνωση, ακόμη και παρουσία χαμηλού αντιγονικού φορτίου.

Γρήγορα και εύκολα, το Speed Leish KTM εκτελείται σε ένα απλό βήμα κατά τη διάρκεια μιας διαβούλευσης και σε μόλις 20 λεπτά.

Το Speed Leish KTM είναι πολύ σταθερό και μπορεί να αποθηκευτεί για 24 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου, μεταξύ 2 ° C και 30 ° C.

Η λείσμανίαση των σκύλων είναι μια ασθένεια που μεταδίδεται από φορείς, που μεταδίδεται από μια σκνίπα.. Μετά τη μόλυνση, το ζώο μπορεί να παραμείνει προφανώς υγιές για αρκετούς μήνες ή και χρόνια πριν αναπτύξει υποκλινικά (πρωτεϊνουρία, βιοχημικές και αιματολογικές ανωμαλίες) και στη συνέχεια κλινικά συμπτώματα (απώλεια βάρους, δερματική νόσος, οφθαλμική νόσος κ.λπ.) (2)

Ανάλογα με την περιοχή, ο επιπολασμός στα σκυλιά κυμαίνεται από 0 έως 50%. Στις ενδημικές περιοχές, (λεκάνη της Μεσογείου), το 25 έως 30% των φορέων είναι ασυμπτωματικοί (SOLANO GALLEGO, 2009).

Σε περίπτωση κλινικών συμπτωμάτων, το Speed Leish K™ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της αιτιολογικής διάγνωσης.

Σε ενδημικές περιοχές, συνιστάται ανεπιφύλακτα η τακτική χρήση του Speed Leish K™ για να καταστεί δυνατή η έγκαιρη ανίχνευση της νόσου σε ασυμπτωματικούς σκύλους (CHENE J. 2010).

Κατά την μετάβαση από και προς, μια ενδημική ζώνη, το Speed Leish K™ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο πιθανής ορομετατροπής.



Εικόνα 2.7.1 Ταχεία ανίχνευση αντισωμάτων κινεσίνης κατά της *Leishmania infantum*.

2.8 Ανοσοθεραπεία και Ανοσοχημειοθεραπεία ως Στρατηγικές για τη Βελτίωση της Αποτελεσματικότητας της Θεραπείας της Λεισμανίασης των Σκύλων

Η ανοσοθεραπεία περιλαμβάνει τη χρήση βιολογικών ουσιών ή μορίων για τη ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων με σκοπό την επίτευξη προφυλακτικής ή/και θεραπευτικής επιτυχίας (Okwor and Uzonna, 2009; Musa et al., 2010; Khadem and Uzonna, 2014; Roatt et al., 2014 Singh and Sundar, 2014). Για παράδειγμα, οι ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες ασκούν την επίδρασή τους αυξάνοντας άμεσα ή έμμεσα τη φυσική άμυνα του ξενιστή, αποκαθιστώντας τις εξασθενημένες οργανικές λειτουργίες, μειώνοντας την υπερβολική απόκριση του ξενιστή (Oldham and Smalley, 1983; Okwor and Uzonna, 2009).

Δεδομένου ότι η *Leishmania* είναι σε θέση να επιμείνει στα κύτταρα ξενιστές αποφεύγοντας ή εκμεταλλευόμενη τους ανοσολογικούς μηχανισμούς τους, η ικανότητα ανάπτυξης μιας συγκεκριμένης ανοσολογικής απόκρισης θα μπορούσε να προκαλέσει έλεγχο αντιγραφής παρασίτων (Gurpta et al., 2013). Έτσι, η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος με αντιγόνα ή ανοσοτροποποιητές θα μπορούσε να είναι μια εναλλακτική προσέγγιση για την καταπολέμηση διακριτών λοιμώξεων όπως η λεισμανίαση (Scott and Novais, 2016).

Δεδομένου ότι η ανοσοθεραπευτική θεραπεία κατά της μόλυνσης από *Leishmania* έχει αποδειχθεί επιτυχώς, η πρώτη μελέτη σε σκύλους πραγματοποιήθηκε από τους Neogy et al. (1994) χρησιμοποιώντας αντιγόνο LiF2 μόνο ή σε συνδυασμό με αντιμονικό N-μεθυλογλουκαμίνη. Αυτοί οι συγγραφείς περιέγραψαν ότι το πρωτόκολλο ανοσοχημειοθεραπείας ήταν πιο αποτελεσματικό για θεραπεία CVL, καταδεικνύοντας ένα ποσοστό κλινικής θεραπείας 100%, στο οποίο δεν παρατήρησαν κανένα παράσιτο στην άμεση μικροσκοπική εξέταση των αναρροφήσεων μυελού των οστών

Οι ανοσοτροποποιητές έχουν περιγραφεί ότι ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα έναντι της μόλυνσης *Leishmania* με αποτέλεσμα τον έλεγχο των παρασίτων (Taslimi et al., 2016). Η δομπεριδόνη, για παράδειγμα, μπόρεσε να προκαλέσει κλινική βελτίωση της CVL στο 86% των ζώων με πολλαπλά κλινικά σημεία, με τους

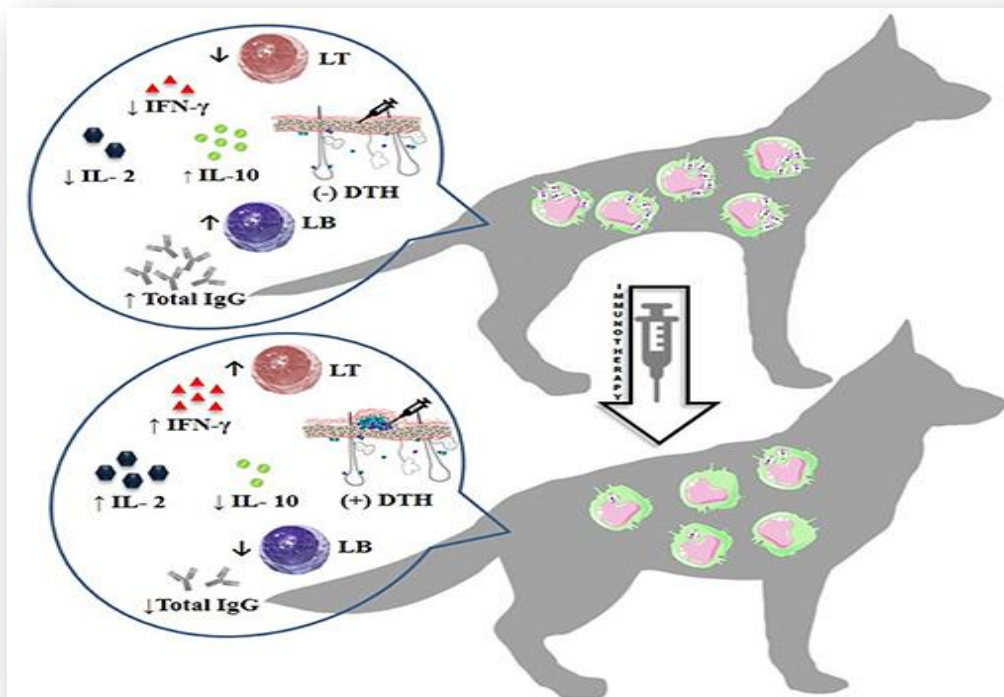
τίτλους αντισωμάτων στον ορό να μειώνονται κατά 38% (Gómez-Ochoa et al., 2009). Επιπλέον, το πρωτεϊνικό συσσωμάτωμα ανυδρίτη μαγνησίου-φωσφολινολεϊκού μαγνησίου-παλμιτολεϊκού (P-MAPA) χρησιμοποιήθηκε ως προσέγγιση ανοσοτροποποιητή έναντι του CVL, προκαλώντας μερική ανοσοεπάρκεια σε συμπτωματικούς σκύλους (Santiago et al., 2013). Αντίθετα, το IMOD (Novel Herbal Immunomodulator Drug) που χρησιμοποιήθηκε ως ανοσοθεραπευτική θεραπεία σε πειραματικό CVL δεν προκάλεσε προφλεγμονώδη ανοσοαπόκριση ούτε προκάλεσε έλεγχο παρασίτων, με αποτέλεσμα τη χαμηλή θεραπευτική αποτελεσματικότητα (Malmasi et al., 2014).

Η ορολογία των εμβολίων έχει χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία με ανοσοθεραπεία, αφού οι συγγραφείς περιέγραψαν τα εμβολιακά αντιγόνα που χρησιμοποιούνται για την πρόκληση κυτταρικής ανοσοαπόκρισης έναντι του CVL. (Bojja-Cabrera et al. 2004) αξιολόγησε την ανοσοθεραπευτική αποτελεσματικότητα του εμβολίου FML σε ασυμπτωματικούς σκύλους, η οποία προκάλεσε θετική απόκριση DTH στο 79-95% των ζώων και τον έλεγχο των παρασίτων στον μυελό των οστών. Αντίθετα, ο εμβολιασμός με Leish111f (MML πολυπρωτεΐνη) συν MPL®-SE απέτυχε να αποτρέψει την εξέλιξη της νόσου (Gradoni et al., 2005). Santos et al. (2007) χορήγησε εμπλουτισμένο εμβόλιο (FML-Saponin) σε συμπτωματικούς σκύλους, με αποτέλεσμα τη μείωση των κλινικών σημείων και την παρασιτική επιβάρυνση στο ήπαρ, τη σπλήνα, το μυελό των οστών και το αίμα. Η ανοσοθεραπεία με χρήση Leish-110f® με το πρόσθετο MPL-SE (Monophosphoril Lipid A), μόνη ή σε συνδυασμό με αντιμονική μεγλουμίνη (ανοσοχημειοθεραπεία) σε συμπτωματικούς σκύλους, μπόρεσε να μειώσει τον αριθμό των θανάτων, να αυξήσει την πιθανότητα επιβίωσης και να προκαλέσει συγκεκριμένη κυτταρική αντιδραστικότητα για παράσιτα αντιγόνα (Miret et al., 2008). Από εκεί και πέρα, η ανασυνδυασμένη πολυπρωτεΐνη που χρησιμοποιεί αντιγόνο Leish-111f® με MPL-SE® παρείχε ποσοστό θεραπείας 75%, το οποίο ήταν υψηλότερο σε σύγκριση με σκύλους που έλαβαν χημειοθεραπεία (64%) ή ανοσοχημειοθεραπεία (50%) (Trigo et al., 2010).

Το ανοσοθεραπευτικό πρωτόκολλο χρησιμοποιώντας *L. infantum* ανασυνδυασμένη πρωτεΐνωση κυστεΐνης (rLdceys1) σε συνδυασμό με ανοσοενισχυτικό *Propionibacterium acnes* προκάλεσε υψηλή ιντερφερόνη γ (IFN- γ) με χαμηλή παραγωγή κυτοκίνης IL-10 μαζί με μείωση του φορτίου των παρασίτων της σπλήνας (Ferreira et al., 2014). Αξιοσημείωτο, το εμβόλιο που αποτελείται από αντιγόνα *L. braziliensis* που σχετίζονται με ανοσοενισχυτικό MPL (εμβόλιο LBMPL) σε

συμπτωματικούς σκύλους μπόρεσε να προκαλέσει αυξημένα λεμφοκύτταρα CD3+ T και τους υποπληθυσμούς τους, μείωση των λεμφοκυττάρων CD21+ B και αύξηση των κυττάρων NK και των μονοκυττάρων CD14+. Επιπλέον, τα σκυλιά παρουσίασαν σημαντική μείωση του αριθμού και της έντασης των συμπτωμάτων της νόσου, αυξημένο σωματικό βάρος, μειωμένη σπληνομεγαλία και πτώση του φορτίου των παρασίτων (Roatt et al., 2017). Ομοίως, οι Viana et al. (2018) απέδειξαν ότι τα αντιγόνα *L. amazonensis*, μόνο ή σε συνδυασμό με σαπωνίνη (θεραπευτικό εμβόλιο LaSap), που χρησιμοποιήθηκαν σε συμπτωματικούς σκύλους βελτίωσαν την κλινική τους κατάσταση, μείωσαν τα επίπεδα IgG στον ορό και πυροδότησαν ένα λεμφοπολλαπλασιαστικό προφίλ χρησιμοποιώντας αντιγόνα *L. infantum*, με αποτέλεσμα εξαιρετική μείωση του φορτίου των παρασίτων. Επιπλέον, το εμβόλιο Leish-Tec® (πρωτεΐνη *Leishmania* A2 και πρόσθετο σαπωνίνης-Ceva Saúde Animal Ltda) που χρησιμοποιείται ως ανοσοθεραπεία σε ασυμπτωματικά σκυλιά προκάλεσε περιορισμό της κλινικής εξέλιξης και της θνησιμότητας (Toerpp et al., 2018).

Τα διαφορετικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται για ανοσοθεραπεία ή ανοσοχημειοθεραπεία γενικά οδηγούν σε βελτίωση των κλινικών σημείων με δυνατότητα περαιτέρω μείωσης του παρασιτικού φόρτου ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα έναντι της λοίμωξης *Leishmania*. Συνολικά, αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ανοσοθεραπεία είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για τη θεραπεία του CVL. Ωστόσο, η κάθαρση των παρασίτων στον CVL δεν έχει επιτευχθεί ακόμη, ανεξάρτητα από τη θεραπεία, και αυτή είναι η ισχυρότερη αρνητική πτυχή σε αυτές τις μελέτες. Η αναζήτηση νέων ανοσοθεραπευτικών παραγόντων για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων σε αυτόν τον τύπο θεραπείας έχει μεγάλο ενδιαφέρον, δεδομένου του στόχου της να βελτιώσει τον έλεγχο των παρασίτων και να αναπτύξει προσεγγίσεις για τον αποκλεισμό της μετάδοσης CVL. Όλες οι ανοσολογικές πτυχές που σχετίζονται με ανοσοθεραπεία που περιγράφονται παραπάνω συνοψίζονται στο σχήμα 2.5.1



Εικόνα 2.7.1. Ανοσολογικές όψεις που σχετίζονται με την ανοσοθεραπεία. ↑, μειώθηκε. ↓, αυξημένο? IFN- γ , γάμμα ιντερφερόνης. IL-2, Ιντερλευκίνη 2; IL-10, Ιντερλευκίνη 10; (+), θετικό (-), αρνητικό · DTH, υπερευαισθησία καθυστερημένου τύπου. IgG, ανοσοσφαιρίνη G; LT, T λεμφοκύτταρα; Λεμφοκύτταρα LB, B.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ

3.1 Περιστατικό 1^ο

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Ημίαιμος αρσενικός σκύλος, ηλικίας 3 ετών και βάρους 16.5 kg, προσκομίστηκε στο ιατρείο φανερά αδυνατισμένος, με απώλεια όρεξης και γενικευμένη κατάπτωση, με εμφανής δερματολογικές ανωμαλίες, ξηρή κερατοεπιπεφικήτιδα, και με έντονες απολεπιστικές ελκώδης βλάβες στα αυτιά και στα πόδια.



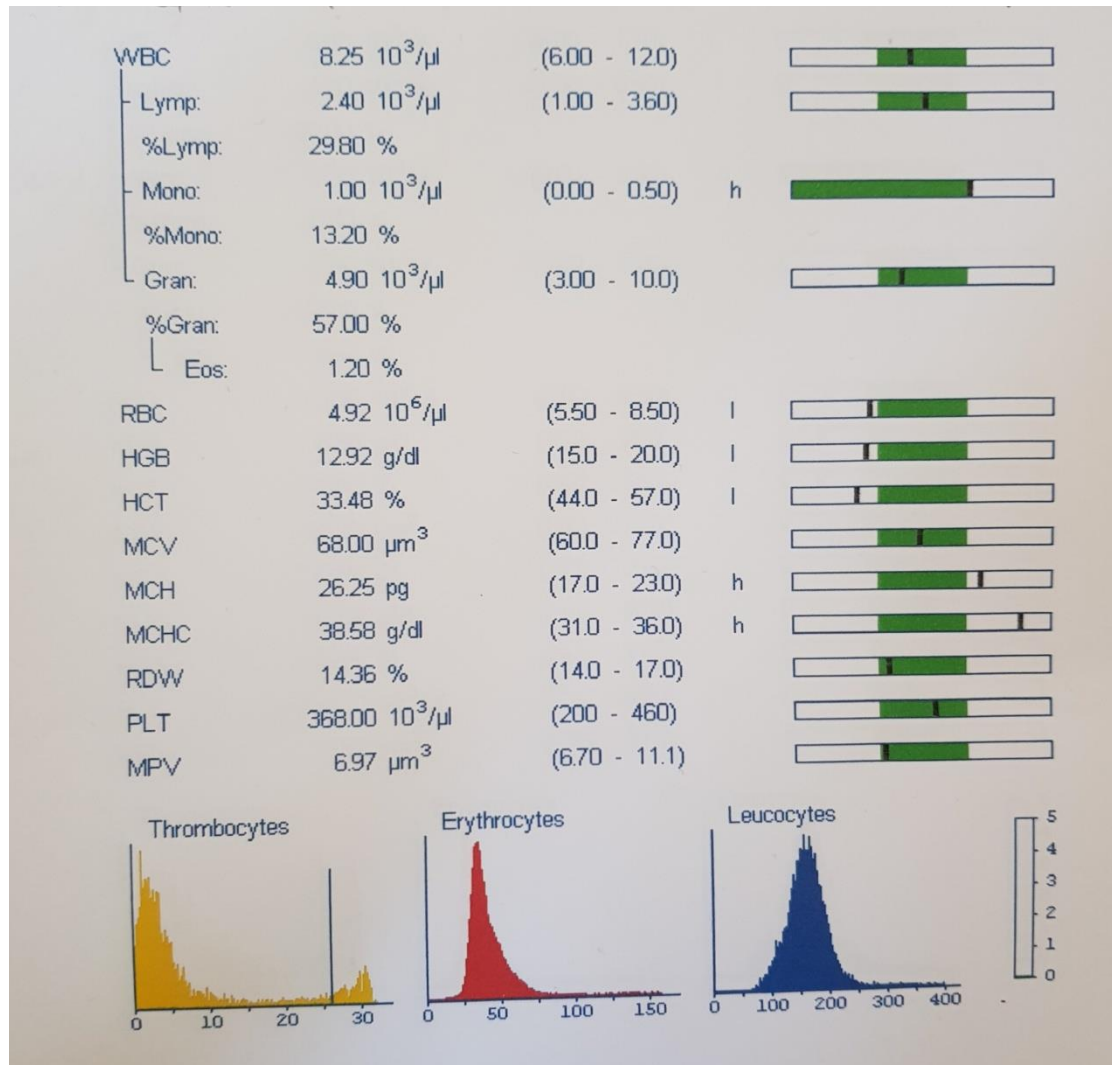
Εικόνα 3.1.1 Στις παραπάνω φωτογραφίες διακρίνονται τα δερματικά έλκη στα αυτιά και τα ακρα, η προχωρημένη ξηρή κερατοεπιπεφικήτιδα και η γενική κατάπτωση του σκύλου.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

ΔΕΙΚΤΗΣ

ΤΙΜΗ

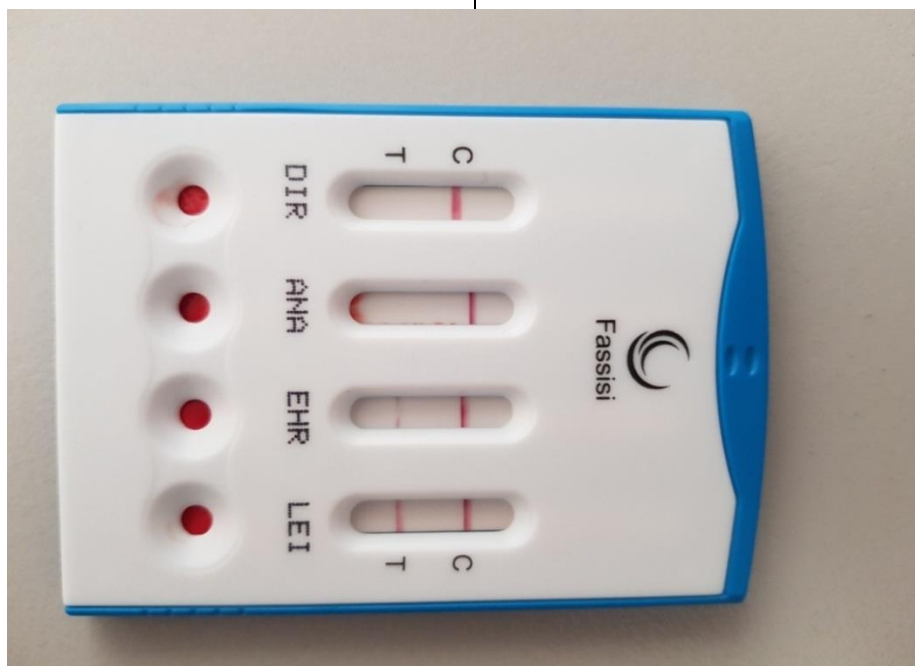
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΥΡΟΣ



Εικόνα 3.1.2 Αιματολογικές εξετάσεις.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
DIR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
ANA	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3.1.3 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Μιλτεφοσίνη 2mg/kg για 28 ημέρες
- Αλοπουρινόλη 10mg/kg δυο φορές τη μέρα για 6 μήνες

ΕΞΕΛΙΞΗ

Από τις πρώτες κιόλας μέρες που ξεκίνησε η αγωγή, ο οργανισμός του ζώου ανταποκρίθηκε θετικά, μετά τις 28 ημέρες και αφού τελείωσε η αγωγή με Μιλτεφοσίνη ή κλινική εικόνα του ήταν πολύ καλύτερη και είχε αρχίσει να πέρνει βάρος. Συνέχιζε τη θεραπεία του μόνο με αλοπουρινόλη, 3 μήνες μετά είχαν κλείσει τελείως και η πληγές του και ήταν μια χαρά.

3.2 Περιστατικό 2^ο

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

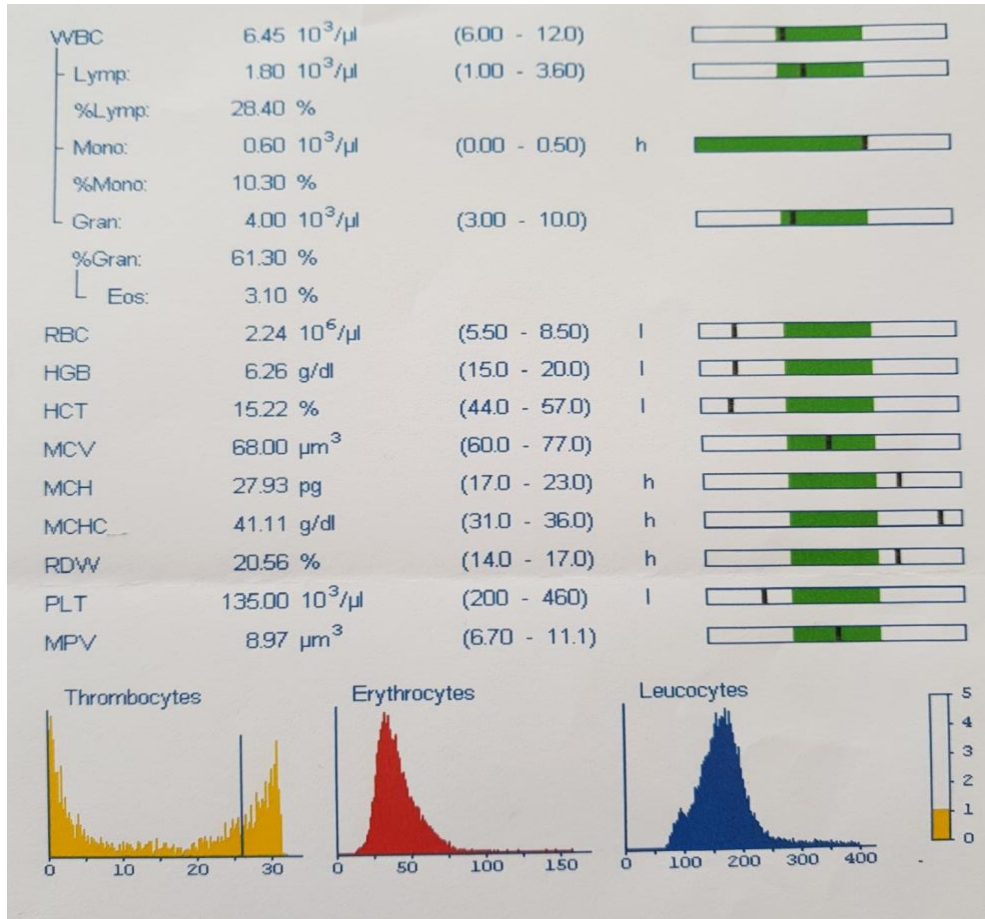
Επανιέλ μπρετόν αρσενικό 6 χρονών και 18kg, προσκομίστηκε στο ιατρείο με κατάπτωση, ανορεξία, απώλεια βάρους, θερμοκρασία 39°C. Χωρίς κανένα εμφανές δερματικό πρόβλημα, με ωχρότητα στοματικού βλεννογόνου.



Εικόνα 3.2.1 Στις παραπάνω φωτογραφίες διακρίνουμε μια ωχρότητα στοματικού βλεννογόνου και καμία δερματική αλλοίωση.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

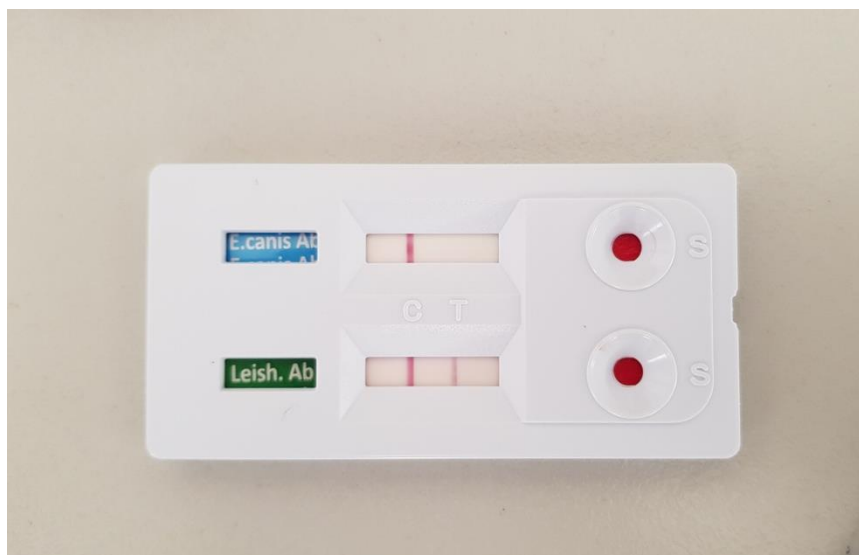
ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΙΜΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΥΡΟΣ



Εικόνα 3.2.2 Αιματολογικές εξετάσεις.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3.2.3 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Αλοπουρινόλη 10 mg/kg δύο φορές τη μέρα για 6 μήνες .

ΕΞΕΛΙΞΗ

Έχει βελτιωθεί η κατάσταση της υγείας του έχει αρχίσει να πέρνει βάρος και η αιματολογικές του εξετάσεις μετά από 3 μήνες υπό αγωγή είναι σε σχετικά φυσιολογικά επίπεδα

3.3 Περιστατικό3°

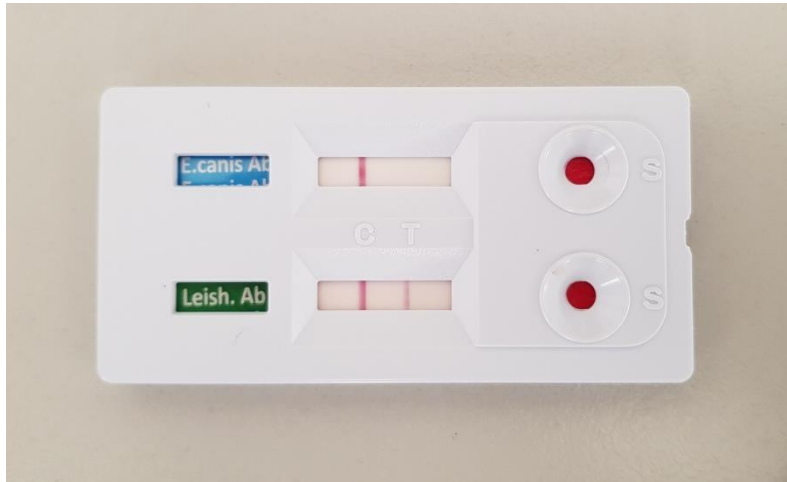
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Ημιάιμο αρσενικό σέττερ ηλικίας 9 ετών και 25kg,θετικός στη λειψμάνια υπο αγωγή συντήρησεις με αλοπουρινόλη αλλά υποτροπίασε,και προσκομίστηκε στο ιατρείο με κατάπτωση, απώλεια βάρους, ανορεξία, αλωπεκία και δερματικές αλλοιώσεις στα αυτιά και στα πόδια



ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3.3.2 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Μιλτεφοσίνη 2mg/kg σωματικού βάρους μια φορά την ημέρα για 28 ημέρες
- Αλοπουρινόλη 10mg/kg σωματικού βάρους δύο φορές την ημέρα για 6 μήνες.

ΕΞΕΛΙΞΗ

Ήταν υπό αγωγή συντήρηση με αλοπουρινόλη 10mg/kg σωματικού βάρους δυο φορές την μερα για μια εβδομάδα κάθε μήνα, αλλά δυστυχώς μετα από λίγους μήνες υποτροπίασε και ξεκίνησε ξανα από την αρχή τη θεραπεία με μιλτεφοσίνη και αλοπουρινόλη. Και έχει αρχίσει να βελτιώνεται η κατάσταση τις υγείας.

3.4 Περιστατικό 4^ο

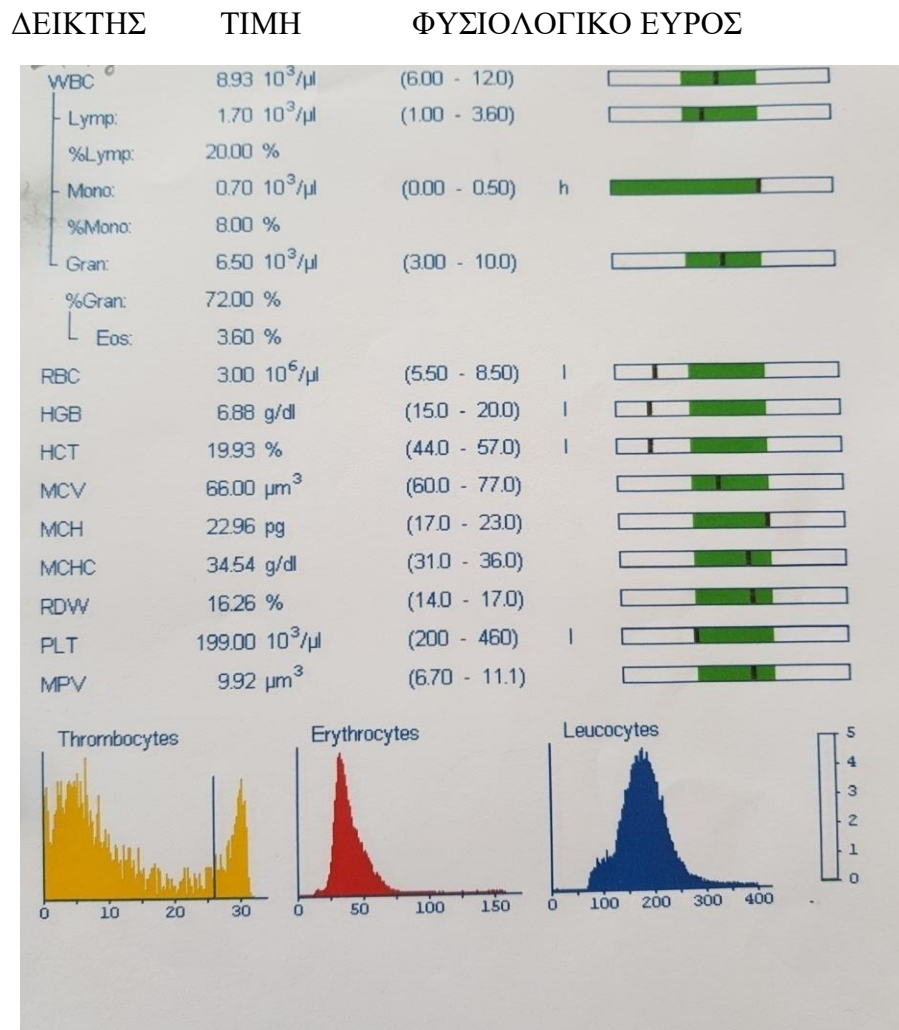
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Αμέρικαν σταφορντσάϊρτεριέ αρσενικό 5χρονών και 27kg. Προσκομίστηκε στο ιατρείο με ανορεξία, απώλεια βάρους, με επιδερμική απολέπιση και αποχρωματισμό και οζίδια στα πόδια



Εικόνα 3.4.1 Στις παραπάνω φωτογραφίες παρατηρούμε επιδερμική απολέπιση, και οζίδια που αναπτύσσονται στα πόδια

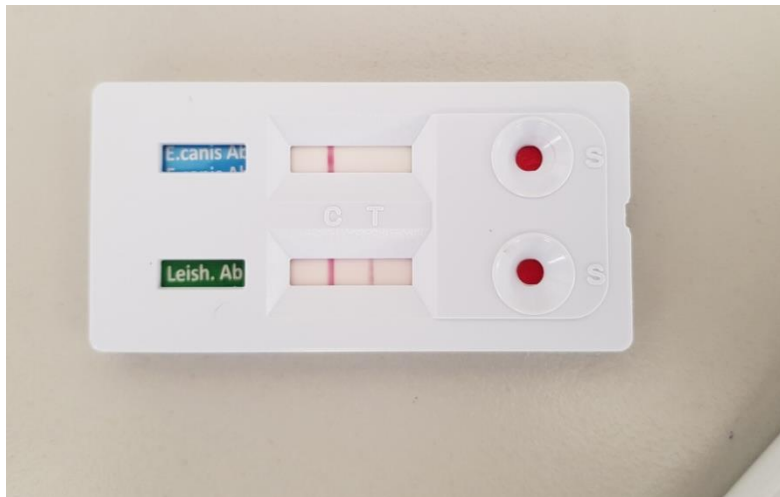
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ



Εικόνα 2.4.2 Αιματολογικές εξετάσεις.

ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3.4.3 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Αλοπουρινόλη 10mg/kg σωματικού βάρους δυο φορές τη μέρα για 6 μήνες

3.5 Περιστατικό 5^ο

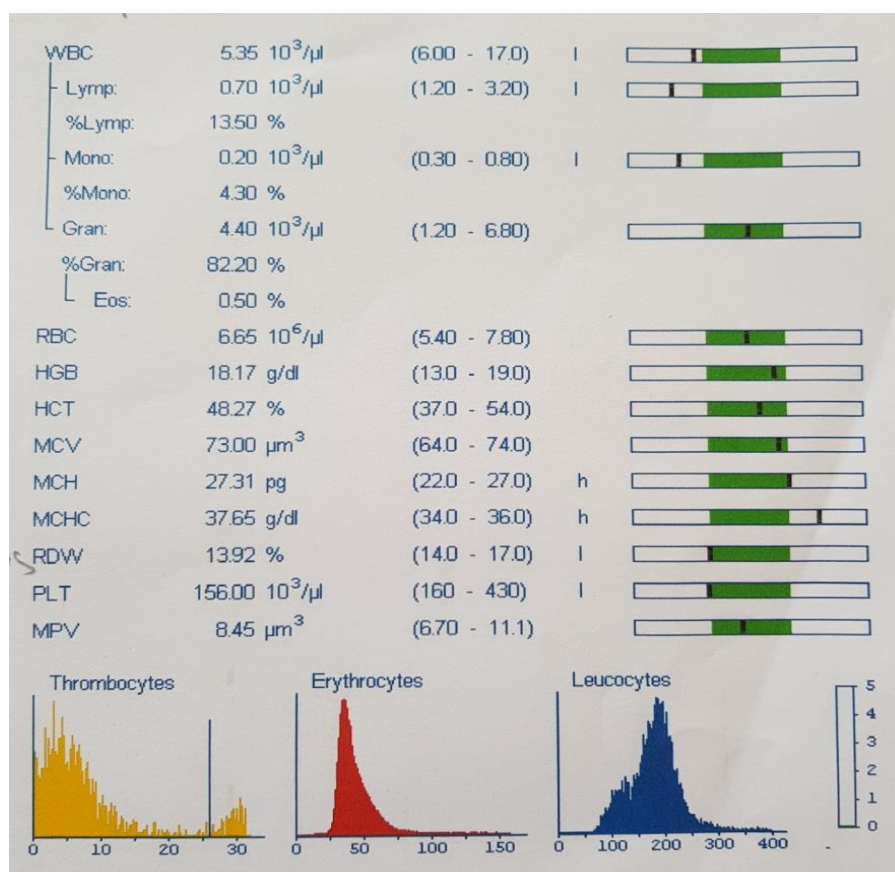
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Καναδέζικο λυκόσκυλο αρσενικό 5 χρονών και 30kg. Τυχαίο ευρυμα στον ετήσιο προληπτικό έλεγχο.



ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

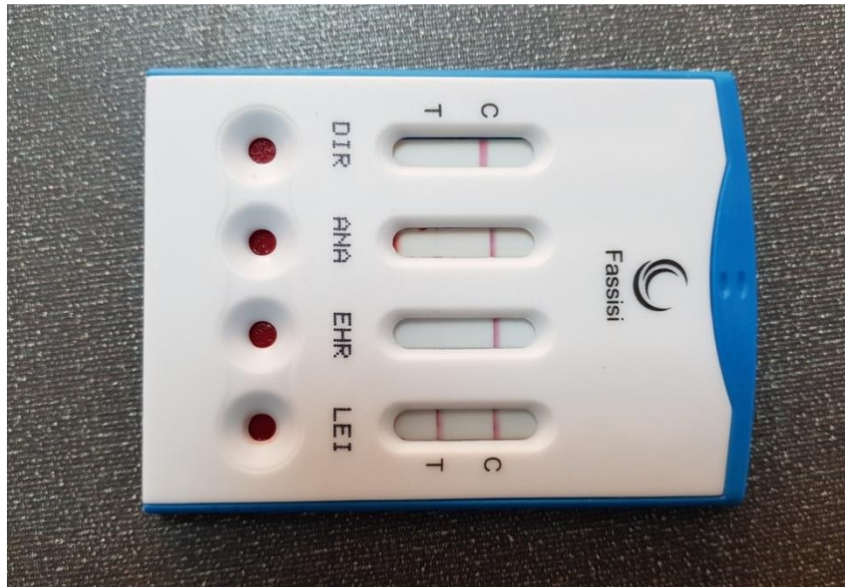
ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΙΜΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΥΡΟΣ



Εικόνα 3.5.2 Αιματολογικές εξετάσεις

ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
DIR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
ANA	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3.5.3 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Δεν συνιστάται θεραπεία με φαρμακευτική αγωγή λόγω του ότι δεν έχει κανένα σύμπτωμα και των καλών αιματολογικών εξετάσεων. Θα παρακολουθείται και θα γίνονται αιματολογικές εξετάσεις ανα 6 μήνες.

3.6 Περιστατικό 6^ο

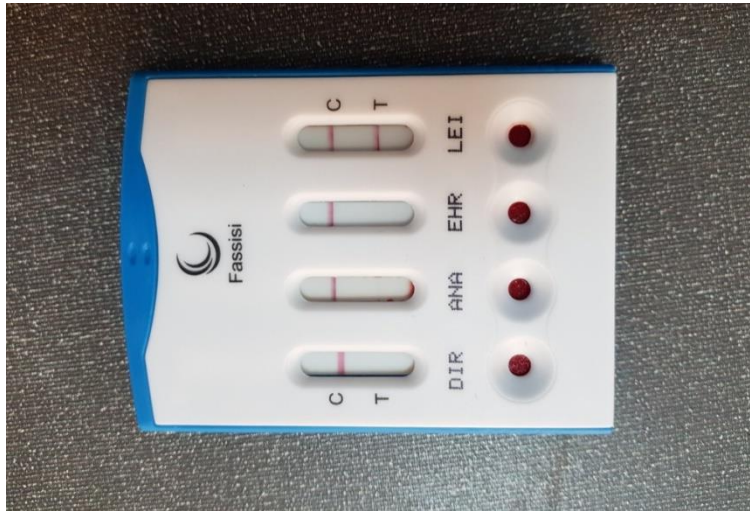
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Ημιάιμο αρσενικό μαλτέζ 11 χρονών και 8 kg. Προσκομίστηκε στο ιατρείο με αδιαθεσία, απώλειας βάρους, διάρροια, δυσκολία στην κίνηση και εμφανή ξηρή κερατοεπιπεφυκίτιδα και επιδερμική απολέπιση.



ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Test	Αποτέλεσμα
DIR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
ANA	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
EHR	ΑΡΝΗΤΙΚΟ(-)
LEI	ΘΕΤΙΚΟ(+)



Εικόνα 3 Το θετικό ορολογικό test με τη χαρακτηριστική διπλή γραμμή στη λεισμάνια.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Δεν πραγματοποιήθηκε διότι κρίθηκε αναγκαία η ευθανασία του ζώου λόγω τις ηλικίας του και της κακής καταστάσης του, με τη συναίνεση του ιδιοκτήτη.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρόλο που τα ανοσοθεραπευτικά πρωτόκολλα που περιγράφηκαν μπόρεσαν να προκαλέσουν κλινική βελτίωση, εξακολουθεί να υπάρχει ένα μεγάλο αδιέξοδο όσον αφορά την απόκτηση παρασιτολογικής θεραπείας, καθώς τα σκυλιά που έχουν μολυνθεί με *L. infantum* εξακολουθούν να είναι παράσιτα δεξαμενές για φορείς αμμομύγας. Επομένως, χρειάζονται νέα πρωτόκολλα για να επιτευχθεί καλύτερη αποτελεσματικότητα στη θεραπεία CVL. Επιπλέον, καινοτόμες στρατηγικές μπορούν να ενσωματωθούν στην ανοσοθεραπεία για να παρέμβουν στη δυναμική της μετάδοσης ασθενειών.

Το γεύμα αίματος της σκνίπας και της μύγας άμμου και η αλληλεπίδραση του παρασίτου με τον ασπόνδυλο ξενιστή είναι καθοριστικοί παράγοντες για τη μετάδοση της *Leishmania*. Ο συνδυασμός παραγόντων αντιγόνων με αντιγόνα sandfly σε ένα μόνο σκεύασμα ως ανοσοθεραπευτικό πρωτόκολλο θα παρείχε πιο κατάλληλη θεραπεία. Ωστόσο, αυτή η νέα ανοσοθεραπευτική προσέγγιση δεν έχει ακόμη δοκιμαστεί σε σκύλους. Τέλος, αυτός ο τύπος ανοσοθεραπείας θα μπορούσε να προωθήσει την κλινική βελτίωση και τον αποτελεσματικό έλεγχο του φορτίου των παρασίτων, επιπλέον να μειώσει σημαντικά τον κίνδυνο μετάδοσης VL και, ως εκ τούτου, να μειώσει τον αριθμό των περιπτώσεων σκύλων και ανθρώπων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η CanL είναι μια ζωνωτική χρόνια ασθένεια που μεταδίδεται κυρίως από σκνίπες και μολυσμένες μύγες άμμου και μπορεί να είναι δυνητικά θανατηφόρα για ανθρώπους και σκύλους. Οι επιδημιολογικές, κλινικές και εργαστηριακές πτυχές τους είναι πολύ μεταβλητές, γεγονός που καθιστά δύσκολο για τους κτηνιάτρους να ολοκληρώσουν μια διάγνωση και στη συνέχεια να θεραπεύσουν και να ελέγξουν τη νόσο, ειδικά λόγω της έλλειψης πιο αποτελεσματικών φαρμάκων και εμβολίων. Ωστόσο, καταβάλλονται σημαντικές προσπάθειες από επαγγελματίες από πολυεπιστημονικούς τομείς προκειμένου να βελτιωθούν οι γνώσεις σχετικά με αυτήν την παρασιτική ασθένεια, έτσι ώστε η πρόληψη, η θεραπεία και ο έλεγχος να βελτιωθούν στο μέλλον.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. World Health Organization. Report of the meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva, Switzerland: 2010. Control of the leishmaniasis. Vol. 9492010. [Google Scholar]
2. Alvar J., Vélez I. D., Bern C., et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS ONE. 2012;7(5) doi: 10.1371/journal.pone.0035671.e35671 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
3. Tsakmakidis K., Dovas C. I. Leishmania infection in rodents in Greece. Proceedings of the I. Tsakmakidis; 2017; pp. 1523–1532. [PubMed] [Google Scholar]
4. Saliba E. K., Oumeish O. Y. Reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis. Clinics in Dermatology. 1999;17(3):275–277. doi: 10.1016/S0738-081X(99)00045-0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Dantas-Torres F. The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. Veterinary Parasitology. 2007;149(3-4):139–146. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.07.007. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
6. Lainson R., Braga R. R., De Souza A. A., Pôvoa M. M., Ishikawa E. A., Silveira F. T. Leishmania (Viannia) shawi sp. n., a parasite of monkeys, sloths and procyonids in Amazonian Brazil. Annales de Parasitologie Humaine Et Comparée. 1989;64(3):200–207. doi: 10.1051/parasite/1989643200. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
7. Talmi-Frank D., Jaffe C. L., Nasereddin A., et al. Leishmania tropica in rock hyraxes (Procavia capensis) in a focus of human cutaneous leishmaniasis. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2010;82(5):814–818. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0513. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
8. Montoya A., De Quadros L. P., Mateo M., et al. Leishmania infantum infection in Bennett's Wallabies (Macropus rufogriseus rufogriseus) in a Spanish wildlife park. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2016;47(2):586–593. doi: 10.1638/2014-0216.1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
9. De Lima H., Rodríguez N., Barrios M. A., Ávila Á., Cañizales I., Gutiérrez S. Isolation and molecular identification of Leishmania chagasi from a bat (Carollia perspicillata) in northeastern Venezuela. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2008;103(4):412–414. doi: 10.1590/S0074-02762008000400018. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
10. Tsokana C. N., Sokos C., Giannakopoulos A., et al. First evidence of Leishmania infection in European brown hare (Lepus europaeus) in Greece: GIS analysis and phylogenetic position within the Leishmania spp. Parasitology Research. 2016;115(1):313–321. doi: 10.1007/s00436-015-4749-8. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
11. Maroli M., Pennisi M. G., Di Muccio T., Khoury C., Gradoni L., Gramiccia M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with Leishmania infantum. Veterinary Parasitology. 2007;145(3-4):357–360. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.11.009. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

12. Dahroug M. A., Almeida A. B., Sousa V. R., et al. The first case report of *Leishmania (leishmania) chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2011;1(3):249–250. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60036-1. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
13. Soares I. R., Silva S. O., Moreira F. M., et al. First evidence of autochthonous cases of *Leishmania (Leishmania) infantum* in horse (*Equus caballus*) in the Americas and mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Veterinary Parasitology*. 2013;197(3-4):665–669. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.06.014. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
14. Malta M. C. C., Tinoco H. P., Xavier M. N., Vieira A. L. S., Costa É. A., Santos R. L. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2010;169(1-2):193–197. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.12.016. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
15. Dumonteil E., Jesus R.-S. M., Javier E.-O., Del Rosario G.-M. M. DNA vaccines induce partial protection against *Leishmania mexicana*. *Vaccine*. 2003;21(17-18):2170–2177. doi: 10.1016/S0264-410X(02)00769-7. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
16. Costa C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. 2011;44(2):232–242. doi: 10.1590/S0037-86822011005000014. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
17. Gramiccia M., Gradoni L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology*. 2005;35(11-12):1169–1180. doi: 10.1016/j.ijpara.2005.07.001. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
18. Nicolle C., Comte C. Origine canine du Kala-azar. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 1908;1:299–301. [Google Scholar]
19. Ribeiro R. R., Silva S. M., Fulgêncio G. d. et al. Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2013;22(3):373–378. doi: 10.1590/S1984-29612013000300009. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
20. Lainson R., Shaw J. J., Silveira F. T., Braga R. R. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1987;81(3):p. 517. doi: 10.1016/0035-9203(87)90187-8. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
21. Mol J. P. S., Soave S. A., Turchetti A. P., et al. Transmissibility of *Leishmania infantum* from maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) and bush dogs (*Speothos venaticus*) to *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*. 2015;212(3-4):86–91. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.08.024. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
22. Maia C., Campino L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? *Trends in Parasitology*. 2011;27(8):341–344. doi: 10.1016/j.pt.2011.03.008. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
23. Solano-Gallego L., Rodríguez-Cortés A., Iniesta L., et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007;76(4):676–680. [PubMed] [Google Scholar]

24. Maroli M., Feliciangeli M. D., Bichaud L., Charrel R. N., Gradoni L. Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*. 2013;27(2):123–147. doi: 10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
25. Gharbi M., Mhadhbi M., Rejeb A., Jaouadi K., Rouatbi M., Darghouth M. A. Leishmaniosis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 2015;34(2):613–626. doi: 10.20506/rst.34.2.2384. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Reguera R. M., Morán M., Pérez-Pertejo Y., García-Estrada C., Balaña-Fouce R. Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2016;227:98–114. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.07.011. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
27. Bates P. A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*. 2007;37(10):1097–1106. doi: 10.1016/j.ijpara.2007.04.003. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
28. Dostálová A., Volf P. *Leishmania* development in sand flies: Parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors*. 2012;5(1, article no. 276) doi: 10.1186/1756-3305-5-276. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
29. Kaszak I., Planellas M., Dworecka-Kaszak B. Canine leishmaniosis-an emerging disease. *Annals of Parasitology*. 2015;61(2):69–76. [PubMed] [Google Scholar]
30. Ayele A., Seyoum Z. Review on canine leishmaniasis, etiology, clinical sign, pathogenesis, treatment and control methods. *Global Veterinaria*. 2016;17(4):343–352. [Google Scholar]
31. Svobodova V., Svoboda M., Friedlaenderova L., Drahotsky P., Bohacova E., Baneth G. Canine leishmaniosis in three consecutive generations of dogs in Czech Republic. *Veterinary Parasitology*. 2017;237:122–124. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.02.025. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
32. Rosypal A. C., Lindsay D. S. Non-sand fly transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in experimentally infected BALB/c mice. *Journal of Parasitology*. 2005;91(5):1113–1115. doi: 10.1645/GE-586R.1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
33. Symmers W. S. Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. *The Lancet*. 1960;1:127–132. [PubMed] [Google Scholar]
34. Meinecke C. K., Schottelius J., Oskam L., Fleischer B. Congenital transmission of visceral leishmaniasis (*Kala Azar*) from an asymptomatic mother to her child. *Pediatrics*. 1999;104(5):p. e65. doi: 10.1542/peds.104.5.e65. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
35. Pagliano P., Carannante N., Rossi M., et al. Visceral leishmaniasis in pregnancy: A case series and a systematic review of the literature. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005;55(2):229–233. doi: 10.1093/jac/dkh538. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
36. Boehme C. C., Hain U., Novosel A., Eichenlaub S., Fleischmann E., Löscher T. Congenital visceral Leishmaniasis. *Emerging Infectious Diseases*. 2006;12(2):359–360. doi: 10.3201/eid1202.050449d. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

37. Zinchuk A., Nadruga A. Congenital visceral leishmaniasis in Ukraine: Case report. *Annals of Tropical Paediatrics*. 2010;30(2):161–164. doi: 10.1179/146532810X12703902516400. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
38. Riera C., Valladares J. E. Viable *Leishmania infantum* in urine and semen in experimentally infected dogs. *Parasitology Today*. 1996;12(10):p. 412. doi: 10.1016/0169-4758(96)90062-9. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
39. Rosypal A. C., Troy G. C., Zajac A. M., Frank G., Lindsay D. S. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *Journal of Parasitology*. 2005;91(4):970–972. doi: 10.1645/GE-483R.1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
40. Silva F. L., Oliveira R. G., Silva T. M. A., Xavier M. N., Nascimento E. F., Santos R. L. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2009;160(1-2):55–59. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.079. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
41. Naucke T. J., Lorentz S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniasis from naturally infected dogs in Germany. *Parasites & Vectors*. 2012;5(1, article no. 67) doi: 10.1186/1756-3305-5-67. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
42. Ben Slimane T., Chouihi E., Ben Hadj Ahmed S., et al. An investigation on vertical transmission of *Leishmania infantum* in experimentally infected dogs and assessment of offspring's infectiousness potential by xenodiagnosis. *Veterinary Parasitology*. 2014;206(3-4):282–286. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.10.020. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
43. Silva F. L., Rodrigues A. A. M., Rego I. O. P., et al. Genital lesions and distribution of amastigotes in bitches naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary Parasitology*. 2008;151(1):86–90. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.09.032. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
44. Carvalho Junior C. G., Teixeira Neto R. G., Lopes V. V., et al. Parasitism and inflammation in ear skin and in genital tissues of symptomatic and asymptomatic male dogs with visceral leishmaniasis. *Parasitology Research*. 2017;116(3):987–995. doi: 10.1007/s00436-017-5375-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
45. Diniz S. A., Melo M. S., Borges A. M., et al. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology*. 2005;42(5):650–658. doi: 10.1354/vp.42-5-650. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
46. Turchetti A. P., Souza T. D., Paixão T. A., Santos R. L. Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2014;8(4):403–407. doi: 10.3855/jidc.4108. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
47. Boggiatto P. M., Gibson-Corley K. N., et al. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2011;5(4) doi: 10.1371/journal.pntd.0001019.e1019 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
48. Pangrazio K. K., Costa E. A., Amarilla S. P., et al. Tissue distribution of *Leishmania chagasi* and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and asymptomatic naturally infected bitches. *Veterinary Parasitology*. 2009;165(3-4):327–331. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.07.013. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

49. De Freitas E., Melo M. N., Da Costa-Val A. P., Michalick M. S. M. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology*. 2006;137(1-2):159–167. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.12.011. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
50. Tabar M. D., Roura X., Francinoy O., Altety L., De Gopegui R. R. Detection of *Leishmania infantum* by real-time PCR in a canine blood bank. *Journal of Small Animal Practice*. 2008;49(7):325–328. doi: 10.1111/j.1748-5827.2008.00542.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
51. Antinori S., Cascio A., Parravicini C., Bianchi R., Corbellino M. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008;8(3):191–199. doi: 10.1016/S1473-3099(08)70043-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
52. Morillas-Marquez F., Martin-Sanchez J., Acedo-Sanchez C., Pineda J. A., Macias J., Sanjuan-Garcia J. *Leishmania infantum* (Protozoa, Kinetoplastida): Transmission from infected patients to experimental animal under conditions that simulate needle-sharing. *Experimental Parasitology emphasizes*. 2002;100(1):71–74. doi: 10.1006/expr.2001.4678. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
53. Naucke T. J., Amelung S., Lorentz S. First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. *Parasites & Vectors*. 2016;9(1, article no. 256) doi: 10.1186/s13071-016-1551-0. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
54. Baneth G. Tick-borne infections of animals and humans: A common ground. *International Journal for Parasitology*. 2014;44(9):591–596. doi: 10.1016/j.ijpara.2014.03.011. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
55. Franc M., Genchi C., Bouhsira E., et al. Efficacy of dinotefuran, permethrin and pyriproxyfen combination spot-on against *Aedes aegypti* mosquitoes on dogs. *Veterinary Parasitology*. 2012;189(2-4):333–337. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.04.026. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
56. Regina-Silva S., Feres A. M. L. T., França-Silva J. C., et al. Field randomized trial to evaluate the efficacy of the Leish-Tec® vaccine against canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Vaccine*. 2016;34(19):2233–2239. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.03.019. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
57. Palatnik-de-Sousa C. B. Vaccines for canine leishmaniasis. *Frontiers in Immunology*. 2012;3, article 69 doi: 10.3389/fimmu.2012.00069. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
58. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) European Public Assessment Report (EPAR) for LETIFEND. European Medicines Agency, 2016.
59. Brianti E., Napoli E., Gaglio G., et al. Field evaluation of two different treatment approaches and their ability to control fleas and prevent canine leishmaniosis in a highly endemic area. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(9) doi: 10.1371/journal.pntd.0004987.e0004987 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
60. Maroli M., Mizzoni V., Siragusa C., D'Orazi A., Gradoni L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Medical and Veterinary Entomology*. 2001;15(4):358–363. doi: 10.1046/j.0269-283x.2001.00321.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

61. Otranto D., Paradies P., Lia R. P., et al. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Veterinary Parasitology*. 2007;144(3-4):270–278. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.09.012. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
62. Ferroglio E., Poggi M., Trisciuglio A. Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. *Zoonoses and Public Health*. 2008;55(3):145–148. doi: 10.1111/j.1863-2378.2007.01092.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
63. Papadopoulos E., Angelou A., Diakou A., Halos L., Beugnet F. Five-month serological monitoring to assess the effectiveness of permethrin/fipronil (Frontline Tri-Act®) spot-on in reducing the transmission of *Leishmania infantum* in dogs. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2017;7:48–53. doi: 10.1016/j.vprsr.2016.12.005. [CrossRef] [Google Scholar]
64. Solano-Gallego L., Miró G., Koutinas A. F., et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors*. 2011;4, article 86 [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
65. Mancianti F., Gramiccia M., Gradoni L., Pieri S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1988;82(4):566–567. doi: 10.1016/0035-9203(88)90510-X. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
66. Koutinas A. F., Koutinas C. K. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum*/chagasi. *Veterinary Pathology*. 2014;51(2):527–538. doi: 10.1177/0300985814521248. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
67. Lima W. G., Michalick M. S. M., Melo M. N. D., Tafuri W. L., Tafuri W. L. Canine visceral leishmaniasis: A histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica*. 2004;92(1):43–53. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.04.007. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
68. Ferrer L., Rabanal R., Fondevila D., Ramos J. A., Domingo M. Skin lesions in canine leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*. 1988;29(6):381–388. doi: 10.1111/j.1748-5827.1988.tb02298.x. [CrossRef] [Google Scholar]
69. Roura X., Fondati A., Lubas G., et al. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *The Veterinary Journal*. 2013;198(1):43–47. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.04.001. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
70. Ordeix L., Dalmau A., Osso M., Llull J., Montserrat-Sangrà S., Solano-Gallego L. Histological and parasitological distinctive findings in clinically-lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis. *Parasites & Vectors*. 2017;10(1, article no. 121) doi: 10.1186/s13071-017-2051-6. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
71. Pietro S. D., Francesca Bosco V. R., Crinò C., Francaviglia F., Giudice E. Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary World*. 2016;9(6):633–637. doi: 10.14202/vetworld.2016.633-637. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
72. Sbrana S., Marchetti V., Mancianti F., Guidi G., Bennett D. Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to *Leishmania* infection. *Journal of Small*

- Animal Practice. 2014;55(6):309–313. doi: 10.1111/jsap.12204. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
73. Giannuzzi A. P., Ricciardi M., De Simone A., Gernone F. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice*. 2017;58(3):125–138. doi: 10.1111/jsap.12650. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 74. Proverbio D. The use of two clinical staging systems of canine leishmaniasis in a clinical setting: a critical evaluation. *Journal of Veterinary Clinical Practice and Petcare*. 2016;1–3. doi: 10.17303/jvcpc.2016.103. [CrossRef] [Google Scholar]
 75. Solano-Gallego L., Koutinas A., Miró G., et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2009;165(1-2):1–18. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 76. Paltrinieri S., Solano-Gallego L., Fondati A., et al. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2010;236(11):1184–1191. doi: 10.2460/javma.236.11.1184. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 77. Courtenay O., Quinnell R. J., Garcez L. M., Shaw J. J., Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002;186(9):1314–1320. doi: 10.1086/344312. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 78. Courtenay O., Carson C., Calvo-Bado L., Garcez L. M., Quinnell R. J. Heterogeneities in *Leishmania infantum* infection: using skin parasite burdens to identify highly infectious dogs. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2014;8(1) doi: 10.1371/journal.pntd.0002583. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 79. Laurenti M. D., Rossi C. N., et al. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. *Veterinary Parasitology*. 2013;196(3-4):296–300. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.03.017. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 80. Alvar J., Cañavate C., Molina R., Moreno J., Nieto J. Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*. 2004;57:1–88. doi: 10.1016/S0065-308X(04)57001-X. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 81. Kaye P. M., Aebischer T. Visceral leishmaniasis: Immunology and prospects for a vaccine. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17(10):1462–1470. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03610.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 82. Liew F. Y., O'Donnell C. A. Immunology of leishmaniasis. *Advances in Parasitology*. 1993;32:161–259. doi: 10.1016/S0065-308X(08)60208-0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 83. Barbiéri C. L. Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunology*. 2006;28(7):329–337. doi: 10.1111/j.1365-3024.2006.00840.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 84. de Vasconcelos T. C. B., Furtado M. C., Belo V. S., Morgado F. N., Figueiredo F. B. Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution*. 2017 doi: 10.1016/j.meegid.2017.10.005. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

85. Quinnell R. J., Kennedy L. J., Barnes A., et al. Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dog is associated with MHC class II polymorphism. *Immunogenetics*. 2003;55(1):23–28. [PubMed] [Google Scholar]
86. Sanchez-Robert E., Altet L., Utzet-Sadurni M., Giger U., Sanchez A., Francino O. Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Research*. 2008;39(3, article no. 36) doi: 10.1051/vetres:2008013. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
87. Solano-Gallego L., Llull J., Ramos G., et al. The Ibizaian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Veterinary Parasitology*. 2000;90(1-2):37–45. doi: 10.1016/S0304-4017(00)00223-5. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
88. Belo V. S., Struchiner C. J., Werneck G. L., et al. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2013;195(1-2):1–13. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.03.010. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
89. Burillo F. L., Pérez F. M. G., Lieza J. P., Fabián M. C. A., Pérez F. M. G. Iron status and anemia in canine leishmaniasis. *Revue Médecine Vétérinaire*. 1994;145(3):171–176. [Google Scholar]
90. De Luna R., Ferrante M., Severino L., et al. Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis-associated anaemia. *Journal of Comparative Pathology*. 2000;122(2-3):213–216. doi: 10.1053/jcpa.1999.0357. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
91. Amusatogui I., Sainz A., Rodríguez F., Tesouro M. A. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *European Journal of Epidemiology*. 2003;18(2):147–156. doi: 10.1023/A:1023090929302. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
92. Reis A. B., Martins-Filho O. A., Teixeira-Carvalho A., et al. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science*. 2006;81(1):68–75. doi: 10.1016/j.rvsc.2005.09.011. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
93. Paltrinieri S., Gradoni L., Roura X., Zatelli A., Zini E. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology*. 2016;45(4):552–578. doi: 10.1111/vcp.12413. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
94. Heidarpour M., Soltani S., Mohri M., Khoshnegah J. Canine visceral leishmaniasis: Relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status. *Parasitology Research*. 2012;111(4):1491–1496. doi:10.1007/s00436-012-2985-8. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
95. Tafuri W. L., De Oliveira M. R., Melo M. N., Tafuri W. L. Canine visceral leishmaniasis: A remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2001;96(3):203–212. doi: 10.1016/S0304-4017(00)00436-2. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
96. Sundar S., Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2002;9(5):951–958. doi: 10.1128/cdli.9.5.951-958.2002. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
97. Silva R. C., Richini-Pereira V. B., Kikuti M., Marson P. M., Langoni H. Detection of *Leishmania (L.) infantum* in stray dogs by molecular techniques

- with sensitive species-specific primers. *Veterinary Quarterly*. 2017;37(1):23–30. doi: 10.1080/01652176.2016.1252073. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
98. Solano-Gallego L., Rodriguez-Cortes A., Trotta M., et al. Detection of *Leishmania infantum* DNA by fret-based real-time PCR in urine from dogs with natural clinical leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2007;147(3-4):315–319. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.04.013. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 99. Ferreira E. D. C., de Lana M., Carneiro M., et al. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Veterinary Parasitology*. 2007;146(3-4):235–241. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.02.015. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 100. Porrozzi R., Santos Da Costa M. V., et al. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays based on crude and recombinant leishmanial antigens for serodiagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania infantum* visceral infections in dogs. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2007;14(5):544–548. doi: 10.1128/CVI.00420-06. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 101. Lopes E. G., Sevá A. P., Ferreira F., et al. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. *Epidemiology and Infection*. 2017:1–9. doi: 10.1017/S0950268817001443. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 102. Fraga D. B. M., Pacheco L. V., Borja L. S., et al. The rapid test based on *Leishmania infantum* chimeric rK28 protein improves the diagnosis of canine visceral leishmaniasis by reducing the detection of false-positive dogs. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(1)doi:10.1371/journal.pntd.0004333.e0004333 [PMC free article][PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 103. Manna L., Corso R., Galiero G., Cerrone A., Muzj P., Gravino A. E. Long-term follow-up of dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasites & Vectors*. 2015;8(1, article no. 289) doi: 10.1186/s13071-015-0896-0. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 104. Yasur-Landau D., Jaffe C. L., David L., Baneth G. Allopurinol resistance in *Leishmania infantum* from dogs with disease relapse. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(1) doi: 10.1371/journal.pntd.0004341.e0004341 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 105. Solano-Gallego L., Di Filippo L., Ordeix L., et al. Early reduction of *Leishmania infantum*-specific antibodies and blood parasitemia during treatment in dogs with moderate or severe disease. *Parasites & Vectors*. 2016;9, article 235 [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
 106. Torres M., Pastor J., Roura X., et al. Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*. 2016;57(6):299–304. doi: 10.1111/jsap.12484. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 107. Sabaté D., Llinás J., Homedes J., Sust M., Ferrer L. A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014;115(1-2):56–63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.010. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 108. Da Silva S. M., Amorim I. F. G. et al. Efficacy of combined therapy with liposome-encapsulated meglumine antimoniate and allopurinol in treatment of

- canine visceral leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(6):2858–2867. doi: 10.1128/AAC.00208-12. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
109. Davoust B., Roqueplo C., Parzy D., Watier-Grillot S., Marié J.-L. A twenty-year follow-up of canine leishmaniosis in three military kennels in southeastern France. *Parasites & Vectors*. 2013;6(1, article 323) doi: 10.1186/1756-3305-6-323. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
110. Otranto D., de Caprariis D., Lia R. P., et al. Prevention of endemic canine vector-borne diseases using imidacloprid 10% and permethrin 50% in young dogs: A longitudinal field study. *Veterinary Parasitology*. 2010;172(3-4):323–332. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.05.017. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
111. Brianti E., Gaglio G., Napoli E. Efficacy of a slow-release imidacloprid (10%)/flumethrin (4.5%) collar for the prevention of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors*. 2014;7(327) [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
112. Wylie C. E., Carbonell-Antoñanzas M., Aiassa E., et al. A systematic review of the efficacy of prophylactic control measures for naturally occurring canine leishmaniosis. Part II: Topically applied insecticide treatments and prophylactic medications. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014;117(1):19–27. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.06.016. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
113. Fernandes C. B., Junior J. T. M., de Jesus C., et al. Comparison of two commercial vaccines against visceral leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism, and parasite transmission by xenodiagnosis. *Vaccine*. 2014;32(11):1287–1295. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.12.046. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
114. Romero G. A. S., Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in latin America - A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2010;4(1, article no. e584) doi: 10.1371/journal.pntd.0000584. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

www.leishvet.org

<https://gr.virbac.com>