Facultad de Veterinaria

Trabajo de

Fin de Grado

Percepción y situación de la leishmaniosis canina en Galicia

Candela González García

Grado en Veterinaria

Año 2025

Modalidad del Trabajo: Experimental

Licencia

Excepto donde se haga constar explícitamente, esta obra pertenece a Candela González García y está bajo una licencia de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.

1. RESUMEN

La leishmaniosis canina es una zoonosis de distribución mundial producida por protozoos del género *Leishmania*, que se transmite vectorialmente mediante la picadura de insectos del género *Phlebotomus*. En la península Ibérica la leishmaniosis canina está causada por *Leishmania infantum*, que es endémica en las regiones Mediterráneas. Galicia se ha considerado tradicionalmente una zona de bajo riesgo, sin embargo, en los últimos años se ha detectado un aumento del número de casos autóctonos, sugiriendo que la presión de infección es mayor a la esperada.

En este trabajo se ha llevado a cabo una encuesta dirigida a veterinarios clínicos de pequeños animales, con 30 preguntas de respuesta múltiple relacionadas con la epidemiología, signos clínicos, tratamiento y medidas de prevención de la leishmaniosis canina. Los datos recopilados fueron analizados y puntuados. Los resultados obtenidos por los veterinarios se compararon empleando un test de correlación con el riesgo de leishmaniosis establecido en función del número de animales diagnosticados o en seguimiento de cada centro y en función del nivel de riesgo estimado para cada una de las zonas según resultados previamente publicados. Además, se realizó una regresión multivariable para conocer si existía una relación entre las puntuaciones obtenidas y el nivel de riesgo empleando los tres indicadores anteriores (número de casos/año, número de casos en seguimiento y nivel de riesgo estimado).

Los resultados indicaron que existía un alto nivel de correlación entre el riesgo estimado mediante el número de casos diagnosticados por año y el número de casos en seguimiento pero que la correlación entre estas dos variables y el nivel de riesgo estimado era negativa. Además, la regresión reveló la existencia de relaciones directas positivas entre el número de casos diagnosticados y en seguimiento y las puntuaciones totales. El análisis de las respuestas incluidas en la encuesta sugirió que la situación epidemiológica de la leishmaniosis en Galicia es muy heterogénea y evidenció la necesidad de una formación continuada para los profesionales de la salud en la que se incluyan conceptos relacionados con la epidemiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento de la leishmaniosis canina.

Palabras clave: Leishmaniosis canina, *Leishmania infantum*, epidemiología, Galicia, encuestas.

1. RESUMO

A leishmaniose canina é unha zoonose de distribución mundial producida por protozoos do xénero *Leishmania*, transmitida vectorialmente pola picadura de insectos do xénero *Phlebotomus*. Na península Ibérica a leishmaniose canina está causada por *Leishmania infantum,* endémica nas rexións mediterráneas. Galicia foi considerada por moito tempo unha zona de baixo risco, mais nos últimos anos detectouse un aumento do número de casos autóctonos, suxerindo que a presión da infección é maior a esperada. Neste traballo levouse a cabo unha enquisa dirixida a veterinarios clínicos de pequenos animais, con 30 preguntas de resposta múltiple relacionadas coa epidemioloxía, signos clínicos, tratamento e medidas de prevención da leishmaniose canina.

Os datos recopilados foron analizados e puntuados. Os resultados obtidos polos veterinarios comparáronse, empleando un test de correlación, co risco de leishmaniose establecido en función do número de animales diagnosticados ou en seguimento de cada centro e en función do nivel de risco estimado para cada una das zonas, según resultados publicados previamente. Realizouse tamén unha regresión multivariable para saber se existía unha relación entre as puntuacións obtidas e o nivel de risco, empleando os tres indicadores anteriores (número de casos por ano, número de casos en seguimento e nivel de risco estimado).

Os resultados indicaron que existía un alto nivel de correlación entre o risco estimado mediante o número de casos diagnosticados por ano e o número de casos en seguimiento, pero que a correlación entre estas dúas variables e o nivel de risco estimado era negativo. Así mesmo, a regresión revelou a existencia de relacións directas positivas entre o número de casos diagnosticados e en seguimento e as puntuacións totais. O análise das respostas incluidas na enquisa suxeriu que a situación epidemiolóxica da leishmaniose en Galicia é moi heteroxénea e evidenciou a necesidade dunha formación continuada para os profesionais da saúde na que se inclúan conceptos relacionados coa epidemioloxía, patoxenia, diagnóstico e tratamento da leishmaniose canina.

Palabras chave: Leishmaniose canina, *Leishmania infantum*, epidemioloxía, Galicia, enquisas.

1. ABSTRACT

Canine leishmaniosis (CanL) is a widespread vector-borne zoonoses caused by protozoan parasites of the genus *Leishmania* and transmitted by female phlebotomine sand flies. *Leishmania infantum* accounts for most of the cases CanL in the Iberian Peninsula, especially around the mediterranean basin, where it's considered endemic. Galicia has been typically perceived as a low-risk area regarding leishmaniosis. However, the most recent data shows an increase in autochthonous infections, suggesting an infection pressure higher than expected.

In the present study, a survey was conducted among small-animals veterinarians hoping to assess information concerning epidemiology, clinical signs, treatment and preventive measures through 30 multiple-choice questions regarding CanL. The collected data was later analysed and scored. The results obtained by the veterinarians were compared using a correlation test with the established risk of leishmaniasis, based on the number of animals diagnosed or under follow-up at each center and the risk level of the area. The risk was estimated according to the most recent literature. In addition, a multivariable regression was performed to determine if there was a relationship between the scores obtained and the risk level, using the three previous indicators (number of cases per year, number of cases under follow-up, and estimated risk level).

The results showed a high level of correlation between the estimated risk based on the number of cases diagnosed per year as well as the number of cases under follow-up. Nevertheless, the correlation between these two variables and the estimated risk level was negative. Additionally, the regression revealed direct positive relationships between the number of diagnosed cases, the cases under follow-up and the total scores. Upon further analysis of the data, it was found that the epidemiological situation of leishmaniasis in Galicia is very heterogeneous, highlighting the importance of ongoing training for healthcare professionals. Such training including concepts related to the epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment of canine leishmaniasis.

Keywords: canine leishmaniosis. *Leishmania infantum*, Galicia, epidemiology, surveys

ÍNDICE

1. RESUMEN…….. **3**
   1.1. RESUMO……. **4**
   1.2. ABSTRACT……. **5**
2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS…… **7**
   2.1. Etiología……... **8**
   2.2. Epidemiología…….. **9**
   2.3. Ciclo biológico……. **10**
   2.4. Patogenia…….. **11**
   2.5. Cuadro clínico……..... **12**
   2.6. Diagnóstico……... **16**
   2.7. Estadiaje clínico……..... **17**
   2.8. Tratamiento y monitorización……..... **18**
   2.9. Profilaxis…….. **20**
   2.10. Objetivos…… **21**
3. MATERIAL Y MÉTODOS……. **21**
   3.1. Características del área de muestreo…… **21**
   3.2. Diseño y elaboración de la encuesta…… **22**
   3.3. Análisis estadísticos……. **23**
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……. **24**
   4.1. Análisis de los indicadores de riesgo……... **24**
   4.2. Consideraciones de los veterinarios…… **28**
5. CONCLUSIONES……... **41**
6. BIBLIOGRAFÍA…… **43**
7. ANEXO I…… **50**

2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La leishmaniosis es una enfermedad zoonósica de distribución mundial producida por protozoos del género *Leishmania* (Leishman, 1903). La leishmaniosis canina es endémica en el sur de Europa, siendo los países de la cuenca mediterránea los que presentan una mayor prevalencia (Baxarias *et al.*, 2023). Aunque la mayor parte de Galicia es considerada una zona de bajo riesgo de infección por *Leishmania* spp. (García, R., *et al.* 2020)., diversos estudios han sugerido que podrían existir áreas endémicas donde el riesgo de infección es elevado, siendo en estas zonas similar al de las zonas mediterráneas (Gálvez *et al.*, 2020; Rodríguez-Escolar *et al.*, 2024). Se ha demostrado que la realización de encuestas es una metodología útil para conocer cuál es la situación de una enfermedad en un área determinada y su epidemiología, así como para obtener información sobre el grado de conocimiento que tiene el personal sanitario sobre esta enfermedad lo que podrá emplearse como base para el establecimiento de programas de formación (Martínez *et al*., 2020).

2.1. ETIOLOGÍA

Se conoce como leishmaniosis al conjunto heterogéneo de manifestaciones clínicas producidas por diferentes especies de protozoos pertenecientes al género *Leishmania* incluido en el filo *Euglenozoa*, clase *Kinetoplastida*, familia *Trypanosomatidae* (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Se han descrito 53 especies de *Leishmania;* de las cuales 20 son causantes de enfermedades antropozoonósicas, que tienen como reservorio al propio ser humano; y zoonósicas, cuyos hospedadores son animales. En perros se han descrito 13 especies, mientras que otras afectan exclusivamente a otras especies, como roedores e incluso macrópodos australianos (Dougall *et al*., 2009). El género *Leishmania* se divide en dos subgéneros dependiendo del lugar del desarrollo del parásito dentro del vector; *Leishmania*, que, se replica en el intestino medio del flebótomo; y *Viannia* que se replica en el intestino distal. El subgénero *Leishmania* puede encontrarse tanto en el Europa como en el continente americano, mientras que *Viannia* sólo se encuentra en el continente americano (Guillot *et al*., 2019).

En Europa la principal especie de *Leishmania* que puede infectar a los perros es *Leishmania infantum*, pero en el continente americano se han detectado otras especies como *Leishmania amazonensis, Leishmania braziliensis, Leishmania mexicana, Leishmania venezuelensis,* entre otras (Solano-Gallego *et al*., 2009; Pennisi *et al*., 2015).

Los protozoos pertenecientes al género *Leishmania* son pleomórficos, con dos etapas principales bien diferenciadas morfológicamente: amastigote y promastigote (Baneth *et al.*, 2012). Los amastigotes son ovalados, con un flagelo corto y un diámetro de no más de 6 μm. Se

encuentran en las células fagocíticas mononucleares del hospedador vertebrado. Por el contrario, los promastigotes son alargados, pudiendo alcanzar hasta 30 µm de longitud. Poseen un flagelo libre y los encontramos en el sistema digestivo de los invertebrados vectores; es decir, son extracelulares (Nicolini *et al*., 2020)

Las leishmaniosis con enfermedades transmitidas por vectores; concretamente mediante flebótomos, pequeños insectos (orden *Diptera*, familia *Psychodidae*) de unos 3,0 mm de longitud pertenecientes al género *Phlebotomus* y *Lutzomyia* (en el continente americano). Los flebótomos se caracterizan por la forma de "V" que sus alas adquieren en reposo, su giba, sus patas largas y por estar recubiertos de vellosidades de color variable desde prácticamente translúcido a negro (Nicolini *et al,* 2020)

Estos insectos presentan una metamorfosis completa de cuatro fases: huevo, larva (con cuatro subestadíos), pupa y adulto o imago (Maroli *et al.,* 2013). Los machos se alimentan de néctar, por lo que son las hembras hematófagas las responsables de la transmisión de patógenos. Los adultos procrean en lugares húmedos con materia orgánica en descomposición, lo cual explica que la transmisión de la leishmaniosis se produzca mayoritariamente en ambientes rurales y periurbanos. El rango de actividad de este díptero está comprendido entre los 15 y 38ºC, siendo los adultos especialmente activos en horas crepusculares o al alba. Su presencia se ve favorecida por una humedad relativa elevada y sin condiciones meteorológicas extremas con lluvias o vientos fuertes (Maroli *et al*., 2013).

Aunque se conocen aproximadamente 1.000 especies de flebótomos, menos de la mitad son vectores competentes de *Leishmania* (Bates, 2007). En el continente europeo la transmisión de *L. infantum* se ha relacionado con, al menos, nueve especies del género *Phlebotomus*: *P. kyelakii, P. tobbi, P. longicuspis, P. neglectus, P. perfiliewi, P. perniciosus, P. syriacus, P. langeroni y P. ariasi* (Solano-Gallego, 2017). Concretamente, en España se ha demostrado la presencia de *P. perniciosus, P. longicuspis, P. langeroni y P. ariasi*; siendo *P. perniciosus* la especie más abundante en la zona mediterránea (Killick-Kendrick, 1999; Maroli *et al.,* 2003).

2.2. EPIDEMIOLOGÍA

En Europa, el principal agente causal de la leishmaniosis canina es *L. infantum*, especie de amplia distribución geográfica, relevante tanto desde el punto de vista veterinario como de salud pública, y el principal reservorio de la enfermedad es el perro. Se estima que unos 2,5 millones de perros están infectados tan solo en la cuenca Mediterránea (Vilas-Boas, *et al*., 2024).

Epidemiológicamente, se definen áreas no endémicas, hipoendémicas, endémicas e hiperendémicas de leishmaniosis, en función de la seroprevalencia de la infección. Es importante

tener en cuenta que en áreas donde la leishmaniosis canina se considera endémica, más de la mitad de los perros infectados no presentarán signos clínicos, un 10% desarrollará la enfermedad grave y en el resto de la población cursará con infecciones subclínicas persistentes (Solano-Gallego *et al*., 2012). Por este motivo se considera que la seroprevalencia y la incidencia de esta enfermedad pueden diferir de forma significativa (Ready, 2010; Campino *et al.,* 2013).

Según el Centro Europeo para la Prevención y control de Enfermedades (ECDC) la mayor parte de áreas endémicas de leishmaniosis canina en Europa se sitúan en la latitud 45 Sur donde se incluyen países en los que existen vectores competentes como por ejemplo Albania, Bulgaria, Croacia, Chipre, Francia, Grecia, Italia, Malta, Macedonia, Portugal y España. Por el contrario, no se ha detectado la presencia de estos vectores en Europa Noroccidental ni Báltica (países bajos, escandinavos, bálticos e islas británicas). Entre los países hipoendémicos se incluyen Bosnia y Herzegovina, Kosovo, Montenegro, Rumanía y Serbia. Por otro lado, dentro de aquellos países en los que no se ha registrado transmisión autóctona pero sí se han identificado vectores o infecciones esporádicas se incluyen Austria, Belgia, República Checa, Alemania, Hungría, Eslovenia, Eslovaquia y Suíza (Ravasi *et al.*, 2024).

Como ocurre con otras enfermedades transmitidas por vectores, la epidemiología de la leishmaniosis depende de múltiples variables que influyen de forma directa en el desarrollo de dichos vectores, así como en su competencia vectorial. De este modo, el aumento progresivo de temperatura media es una de las variables más influyentes en la reciente expansión de la enfermedad, la cual se ha distribuido hacia el norte de la latitud máxima a la cual los flebótomos pueden sobrevivir y reproducirse (Maroli *et al.*, 2008; Ravasi *et al.*, 2024). En Europa el incremento de la distribución de la leishmaniosis se asocia también a un aumento de los desplazamientos de perros infectados procedentes de la cuenca Mediterránea hacia áreas más centrales y septentrionales (Dantas-Torres *et al.*, 2012).

El estudio más reciente sobre la seroprevalencia de *Leishmania* en perros de España se publicó en el 2020 (Gálvez *et al*., 2020). En este estudio (Tabla 1) los animales fueron clasificados por provincia y zona bioclimática de procedencia obteniéndose una seroprevalencia total del 10,12%. Las prevalencias más elevadas se detectaron en Baleares (57%), Ourense (35,6%), Málaga (34,6%) y Cáceres (34,2%) y las más bajas en Vizcaya (0%), Cantabria (2,0%) y Álava (3,3%).

Tabla 1. Prevalencia de *Leishmania infantum* en España por Comunidad Autónoma

Comunidad Autónoma	Prevalencia	Referencia
Comunidad Valenciana	12,3%	Montoya-Alonso *et al.* (2021).
Andalucía	17,1%	Montoya-Alonso *et al.* (2021).

Islas Baleares	4,2%	Alcover-Amengual (2015).
Murcia	1,96%	Ortuño *et al.* (2019).
Galicia	1,5%-24,3%	Rodriguez *et al.* (2024).
Asturias	3,6%	Rodriguez *et al.* (2024).
País Vasco	1,5%	Burguete- Mikeo *et al*. (2022).
Extremadura	17.5%	Pérez-Pérez, *et al.* (2020).
Castilla y León	0,05%-0,019%	Merino- Gochentea (2024).
Cantabria	2,1%	Montoya-Alonso *et al*. (2021).

A nivel local se considera que la transmisión de la leishmaniosis se produce en un ciclo rural y periurbano, ya que los flebótomos se reproducen en lugares húmedos donde abunda la materia orgánica en descomposición. De este modo, lugares como casas con perros en patios o jardines donde se dan estas condiciones serán espacios propicios para su propagación ya que los flebótomos suelen realizar vuelos cortos (unos 300 m), por lo que habitualmente se encuentran en los alrededores de las áreas de reproducción (Nicolini *et al.,* 2020). Dentro de una misma Comunidad Autónoma las características climatológicas y geográficas del área en concreto también pueden influir en la prevalencia de *Leishmania*. De este modo, en áreas montañosas con mayor altitud y menores temperaturas medias la viabilidad de los vectores es menor y por lo tanto también lo es el riesgo de infección (Díaz-Sáez *et al*, 2021; Rodríguez-Escolar *et al*., 2024).

Aunque la transmisión vectorial es la vía de infección con mayor relevancia epidemiológica, existen otras vías de infección como la parenteral, la transmisión vertical vía congénita o *in útero* y la transmisión venérea (Solano-Gallego *et al.;* 2011); sin embargo, la importancia epidemiológica de estas formas todavía está por definir. Además, se han observado casos en las que perros negativos que conviven con otros perros infectados en zonas no endémicas y sin antecedentes de viajes han resultado positivos (Díaz-Sáez *et al*, 2021).

2.3. CICLO BIOLÓGICO

Los protozoos parásitos del género *Leishmania* se caracterizan por tener un ciclo vital heteroxeno, en el que el parásito requiere de dos hospedadores para completar su ciclo. El hospedador definitivo de *Leishmania* spp. es un mamífero o reptil que actúa a su vez como reservorio; y el hospedador intermediario es un insecto (*Phlebotomus* spp.*)*, que actúa como vector (Bates, 2007; Maroli *et al.,* 2013; Guillot *et al*, 2019)

Cuando una hembra de flebótomo se alimenta de un hospedador infectado con *Leishmania* spp. ingiere macrófagos o monocitos con amastigotes del parásito. Algunos autores indicaron que, además, en la saliva de estos insectos se encuentran sustancias anticoagulantes, vasodilatadoras, antiplaquetarias, antiinflamatorias y moléculas inmunomoduladoras, que podrían implicarse en la patogénesis de la enfermedad favoreciendo su infección (Dantas-Torres *et al*., 2012). A las 48 horas post-ingestión los amastigotes se han transformado en promastigotes procíclicos con gran capacidad de reproducción mediante fisión binaria. Durante un periodo de tiempo muy variable (entre 4 y 35 días) el parásito continúa desarrollándose dentro del sistema digestivo del flebótomo. Posteriormente tiene lugar la metaciclogénesis, etapa en la que los parásitos se transforman en promastigotes metacíclicos. Estos promastigotes son más delgados y pequeños, con un flagelo más largo y móvil que permite la migración hacia la faringe y probóscide del flebótomo para ser inoculado durante el siguiente proceso de alimentación (Wilson *et al*., 2010).

Una vez el flebótomo inocula las formas infectivas en el hospedador, estas serán fagocitadas por células del sistema retículo endotelial, principalmente macrófagos, transformándose en amastigotes. Los amastigotes pueden evadir las defensas inmunitarias del hospedador y conseguir multiplicarse asexualmente mediante fisión binaria, lo que acaba produciendo su ruptura de manera que quedan libres en el medio extracelular (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Posteriormente, estas células son fagocitadas por células de la piel y mucosas y, en el caso de afectar a células del Sistema Mononuclear Fagocítico (SMF), son diseminadas por todo el organismo del hospedador causando la forma visceral de la enfermedad (Gicheru *et al*, 2013). Cuando un flebótomo se alimenta de este hospedador, ingerirá los macrófagos con amastigotes, cerrando el ciclo del parásito (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

2.4. PATOGENIA

La leishmaniosis canina cuenta con una gran variedad de presentaciones clínicas, desde infecciones asintomáticas o subclínicas, hasta formas agudas, subagudas e infecciones crónicas (Romero-Peñuela *et al.*, 2007). Dependiendo de la presentación de la enfermedad, los cuadros clínicos serán extremadamente diversos, y dependerán principalmente del estado inmunitario del animal.

Una vez que los promastigotes infectantes se inoculan en la dermis del vertebrado, se produce una reacción inflamatoria local; lo cual se traduce a un incremento exponencial de células de Langerhans, en un primer momento neutrófilos y eosinófilos (Ramírez *et al.*, 2006). Las células polimorfonucleares, concretamente los neutrófilos, son las primeras en llegar a la lesión, infectándose y actuando como vehículo en su difusión por el organismo y como sitio de replicación parasitaria. El papel de los neutrófilos es por lo tanto dual, pudiendo eliminar al

parásito o favorecer su desarrollo (Solano-Gallego., 2001). En un intervalo de entre 24 y 48 horas llegan a la lesión los macrófagos, que fagocitan al parásito. Estas células son las encargadas de presentar el antígeno de *Leishmania* a la población de linfocitos T auxiliares (Th) CD4+ (Hernández *et al.*, 2006). La respuesta inmunitaria del hospedador, y por lo tanto su resistencia a la infección, dependerá de qué subconjunto de linfocitos CD4+ predomine; de este modo, la respuesta mediada por los Th1 tiene un efecto protector y la respuesta mediada por Th2 facilita la difusión del parásito por el organismo (Castagnaro *et al*., 2007; Gicheru *et al.*, 2013). La mayoría de los animales infectados presentan cierto grado de resistencia a la enfermedad, con ausencia de signos clínicos y resolución espontánea de la infección. En estos pacientes predomina la respuesta inmunitaria protectora mediada por células Th1, con la consecuente presentación eficaz de antígenos y posterior producción de interferón gamma (IFN-γ); posteriormente los macrófagos destruirán las formas intracelulares (Miró *et al.*, 2017). En otros casos, ya sea únicamente por causas genéticas o porque presentan estado inmunitario susceptible, los animales desarrollan la denominada enfermedad activa. En estos animales la respuesta inmunitaria celular se ve deteriorada, permitiendo la multiplicación incontrolada del parásito en el citoplasma de los macrófagos y facilitando que *L. infantum* se disemine y multiplique en los órganos linfohematopoyéticos (Castagnaro *et al*., 2007; Pennisi, 2015). Sin embargo, tanto en presentaciones subclínicas como sintomáticas, la infección no es estática; cualquier alteración en el sistema inmunológico del animal puede influir en la respuesta inmunológica ante *L. infantum*, causando una progresión de la enfermedad clínica (Solano-Gallego *et al*., 2014).

2.5. CUADRO CLÍNICO

Las manifestaciones clínicas de la leishmaniosis son extremadamente variables, pudiendo presentarse desde forma subclínica hasta de forma grave produciendo la muerte del animal (Morales-Yuste *et al*., 2022). Esta variabilidad se encuentra intrínsecamente ligada a la respuesta inmunitaria del hospedador, como se ha mencionado en el apartado anterior, el equilibrio entre la respuesta humoral y celular son las que determinarán si la infección se manifiesta como una leishmaniosis clínica (Solano-Gallego *et al*., 2014).

Las etapas de la leishmaniosis son cuatro:

-Fase de incubación: Durante esta fase el parásito se multiplica en las células del sistema fagocítico mononuclear. Es asintomática y de duración variable, desde meses a varios años.

-Fase subclínica o de latencia: Durante esta fase el parásito está presente y es detectable mediante serología y PCR, pero los perros no presentan signos clínicos evidentes. Muchos perros pueden mantenerse en esta fase indefinidamente (Solano-Gallego *et al*., 2005).

-Fase clínica o de progresión: se produce cuando el animal presenta un desequilibrio inmunológico liderado por la respuesta humoral en el que los signos clínicos sistémicos (letargia, pérdida de peso, anorexia, linfadenopatía generalizada, etc.) comienzan a manifestarse. También son frecuentes las lesiones cutáneas y, en cursos más graves, la insuficiencia renal. La gravedad de esta fase dependerá de la carga parasitaria y la respuesta inmunitaria del hospedador (Solano-Gallego *et al*., 2014).

-Fase terminal: se produce cuando los síntomas se agravan de forma progresiva. El pronóstico es reservado y el tratamiento se centra en mantener la calidad de vida del animal. En esta etapa es frecuente que los animales presenten signos clínicos secundarios a la insuficiencia renal y hepática, que, en la mayoría de los casos serán fatales (Morales-Yuste et al., 2022).

La patogenia de la leishmaniosis clínica típica es en su mayoría causada por la respuesta humoral del hospedador frente al parásito. Esto es debido a que la continua estimulación antigénica desencadena diversos mecanismos de patogenicidad, entre los que destaca el depósito de inmunocomplejos en determinados órganos del cual derivan signos clínicos comunes de la leishmaniosis como glomerulonefritis, poliartritis, vasculitis, uveítis y meningitis (Baneth *et al.*, 2008). Las principales manifestaciones clínicas de la leishmaniosis canina pueden dividirse en: sistémicas, cutáneas, oculares, gastrointestinales, renales, neurológicas, cardiovasculares, respiratorias y locomotoras.

-Sistémicas: a menudo son las primeras en aparecer; adelgazamiento progresivo y anorexia que evolucionarán a caquexia en los casos más graves y linfadenomegalia, ya sea localizada o generalizada. Otros signos sistémicos son la esplenomegalia y epistaxis asociada a úlceras tisulares, procesos inflamatorios de la mucosa nasal y el síndrome de hiperviscosidad concomitante, hematuria y fiebre (Dantas-Torres *et al.*, 2012).

-Manifestaciones cutáneas: presentes en casi el 90% de los perros enfermos (Dantas-Torres *et al.*, 2012) y se dividen en típicas y atípicas según su frecuencia de aparición (Tabla 2).

Tabla 2. Manifestaciones clínicas dermatológicas típicas y atípicas de la leishmaniosis canina. Adaptada de Bleda, 2021

Manifestaciones clínicas típicas	**Manifestaciones atípicas**
Dermatitis descamativa	**Dermatitis del plano nasal**
Alteración más común. Empieza en la cabeza y progresivamente afecta al tronco y extremidades.	Comparten patrón lesional con el LED (Solano-Gallego *et al.*, 2017); con despigmentaciones, úlceras y costras.

Dermatitis ulcerativa

Lesiones persistentes. Frecuentes en carpo y tarso (salientes óseos).

Dermatitis papular

Frecuente en zonas endémicas, sobre todo en perros en el estadío I. Es difícil encontrar amastigotes en las lesiones.

Onicogrifosis

Frecuencia variable, 24-90% (Koutinas *et al*., 2010). Las uñas aparecen hipertróficas y su curvatura anormal.

Dermatitis ulcerativa mucocutánea

Comparten patrón con el LED; con escamas y costras dolorosas

Dermatitis ulcerativa

Las úlceras que aparecen en zonas dañadas por causas ajenas a la infección no cicatrizan. También pueden presentarse como focos locales alopécicos con costras hemorrágicas y descamación (pabellón auricular, cola y extremos distales de las extremidades) (Dantas-Torres *et al*., 2012)

Dermatitis nodular cutánea y mucocutánea

Nódulos múltiples o únicos de 1-10 cm localizados en zonas cubiertas de pelo.

Dermatitis descamativa nasodigital

Presencia de escamas gruesas muy adheridas a la piel subyacente y, en ocasiones, fisuras profundas dolorosas en las almohadillas.

Alopecia multifocal

Muy poco común, similar a las lesiones observadas a causa de la dermatopatía isquémica (Bleda. 2021)

-Manifestaciones oculares: su prevalencia es realmente dispar, dependiendo de la bibliografía podemos encontrar un intervalo de 18 – 80% (Solano-Gallego *et al*., 2014) lo que podría estar asociado a la falta de exploración oftálmica en animales con leishmaniosis. Las principales alteraciones son la queratoconjuntivitis seca y la blefaritis alopécica. Además, con relativa frecuencia podemos encontrar uveítis anteriores que en ocasiones progresan a edemas corneales, discoria, cataratas, glaucoma e incluso a atrofia del globo ocular.

-Trastornos gastrointestinales: son poco frecuentes. Se caracterizan como diarreas de intestino grueso, con o sin melena, correspondientes a una colitis ulcerativa granulomatosa causada por la multiplicación de los parásitos en la mucosa del intestino (Solano-Gallego.; 2005).

-Trastornos renales: se relacionan directamente con el depósito de inmunocomplejos a nivel del glomérulo renal. La glomerulonefritis puede ser reversible en sus inicios, pero si la enfermedad avanza, se convierte en una ERC grave, siendo la principal causa de muerte en el paciente con *Leishmania* (Miró *et al*, 2012)

-Trastornos neurológicos: Se han registrado casos de daños vasculares en el sistema nervioso, predisponiendo a infartos cerebrales a esos pacientes (López-Pena *et al.*, 2012)

-Trastornos cardiovasculares: muy poco frecuentes, se ha evidenciado mediante histopatología e IHQ la presencia del parásito en tejido cardíaco, afectando al miocardio. (Torrent *et al*., 2012)

-Trastornos respiratorios: los más comunes son las conjuntivitis y rinitis crónicas.

-Trastornos locomotores: destacan las poliartritis inmunomediadas, se muestran como cojeras intermitentes que no responden a tratamientos antiinflamatorios convencionales. Pueden afectar a una sola extremidad o ser generalizados.

Los principales hallazgos laboratoriales encontrados en perros con leishmaniosis son los siguientes:

-Alteraciones hematológicas: anemia normocítica normocrómica no regenerativa de leve a moderada, causada por una disminución de la eritropoyesis debido a la cronicidad de la infección o a la ERC. De forma frecuente también observamos trombocitopenia y leucograma de estrés (neutrofilia leve con linfopenia y monocitosis variable).

-Alteraciones bioquímicas: dependiendo de los órganos afectados podemos encontrar cambios relacionados con la actividad hepática; renal y, de forma poco habitual, bilirrubinemia.

-Alteraciones proteicas: hiperproteinemia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia. Consecuentemente estos pacientes tendrán reducido el cociente albúmina/globulina. Es frecuente observar gammapatía policlonal, mientras que la hiperglobulinemia beta policlonal es menos común (Solano-Gallego, 2012).

-Alteraciones del urianálisis: presencia de proteínas en la orina. En perros con tratamientos prolongados con alopurinol puede aparecer xantinuria.

-Alteraciones del perfil de coagulación: signos de diátesis hemorrágica (epistaxis, hematuria y diarrea hemorrágica) (Baneth *et al.*, 2012) asociada a alteraciones de la hemostasia primaria o secundaria. También trombocitopenia inmunomediada e hiperviscosidad del suero (derivada de la hiperglobulinemia).

2.6. DIAGNÓSTICO

La infección por *L. infantum* tiene un amplio espectro de manifestaciones y alteraciones clinicopatológicas, que, junto con la inespecificidad de los cuadros clínicos, hacen que el diagnóstico resulte complejo. Además, es importante diferenciar entre la presencia de infección (animal positivo a *Leishmania* spp.) y la enfermedad *per se* (animal que presenta un cuadro clínico), ya que la forma de proceder será diferente.

La aproximación diagnóstica debe de ser, por lo tanto, integrada; constará de una buena anamnesis con una historia clínica detallada y un examen clínico completo. Dicho examen debería incluir en la medida de lo posible un examen dermatológico y oftalmológico. También pruebas de laboratorio rutinarias: hemograma, bioquímica y urianálisis (Solano-Gallego *et al.*, 2018).

Sin embargo, la confirmación del diagnóstico puede realizarse con técnicas de diagnóstico parasitológico convencionales, moleculares o serológicas:

-Diagnóstico parasitológico: se basa en la observación directa de las formas parasitarias mediante citología o histología. Las muestras pueden obtenerse mediante aspiraciones de ganglios linfáticos o médula ósea. La sensibilidad de estos métodos es de 52–85%. Aunque es un procedimiento invasivo, es sencillo, rápido, económico y relativamente poco traumático (Solano-Gallego *et al*., 2011)

-Diagnóstico molecular: suele utilizarse la PCR, con el objetivo de identificar el ADN de *Leishmania* en médula ósea, linfonodos, bazo, piel, hisopado conjuntival u oral. Estas técnicas presentan una sensibilidad cercana al 100% oral (Baxarias *et al*, 2022).

-Diagnóstico serológico: es el más utilizado a nivel clínico (Baxarias *et al.,* 2022). Generalmente la respuesta inmunitaria humoral es muy intensa, lo cual se traduce a altos niveles de inmunoglobulinas específicas. Las pruebas serológicas pueden ser cualitativas o cuantitativas, como la IFAT, que se considera el "*gold standart*" o el ELISA que presentan sensibilidades del 98% y 86-99% respectivamente (Mettler *et al.,* 2005; Morales-Yuste *et al.,* 2022).

-Pruebas rápidas tipo SNAP: Estás técnicas se emplean en pacientes ambulatorios de regiones endémicas (Solano-Gallego *et al.,* 2014). Se trata de pruebas cualitativas, que pueden tener una especificidad y sensibilidad de hasta el 98 %; es decir, muy próximas al método de referencia, aunque los animales positivos siempre deben confirmarse por serología (Morales-Yuste *et al.,* 2022).

2.7. ESTADIAJE CLÍNICO

El estadiaje clínico nos permite poder establecer un pronóstico y orientarnos hacia la opción terapéutica más acertada para cada paciente clasificándolos en cuatro estadios (Tabla 3) en función de los niveles de anticuerpos presentados, los signos clínicos y hallazgos laboratoriales (Solano-Gallego *et al*.; 2018).

Tabla 3. Estadiaje clínico de la leishmaniosis canina dependiendo del estado serológico, hallazgos laboratoriales, signos clínicos y pronóstico. Adaptado de Solano-Gallego *et al.*, 2011.

Estadio	Serología	Hallazgos laboratoriales	Signos clínicos	Pronóstico
Estadío I: Enfermedad leve	Niveles de anticuerpos negativos o bajos	Perfiles normales.	Leves. -Linfadenopatía localizada. -Dermatitis papular	Bueno
Estadío II: Enfermedad moderada	Niveles de anticuerpos bajos o medios.	-Anemia leve no regenerativa -Hipergammaglobulinemia -Hipoalbuminemia -Síndrome de la hiperviscosidad sérica	Signos clínicos del estadío anterior: -Lesiones cutáneas difusas o simétricas, onicogrifosis, úlceras -Linfadenopatía generalizada, -Anorexia, pérdida de peso	De bueno a reservado
Estadío III: Enfermedad grave	Niveles de anticuerpos medios o altos	Hallazgos anteriores +: -Enfermedad renal crónica: IRIS* I (UPC=1-5) o estadío IRIS II (creatinina 1.4-2 mg/dl	Signos clínicos anteriores y: -Vasculitis -Artritis -Uveítis -Glomerulonefritis	Reservado a grave
Estadío IV: Enfermedad muy grave	Niveles de anticuerpos altos o muy altos	Hallazgos anteriores +: -Enfermedad renal crónica: IRIS III (creatinina 2.1-5mg/dl) IV (creatinina > 5 mg/dl) o síndrome nefrótico: proteinuria marcada UPC**>5	Signos clínicos anteriores y: -Tromboembolismo pulmonar -Síndrome nefrótico -ERC terminal.	Grave

*IRIS: clasificación del grado de enfermedad renal crónica (ERC) según las directrices de la *International Renal Interest Society*

**UPC: ratio proteína/creatinina en orina *(Urine Protein Creatinine Ratio)*

2.8. TRATAMIENTO Y MONITORIZACIÓN

Actualmente no hay un tratamiento totalmente eficaz frente a la leishmaniosis canina, ya que ninguno de los fármacos de los que se disponen en la actualidad produce la eliminación completa de todas las formas parasitarias. Por estos motivos, el tratamiento se centra en la curación clínica y control de la infección. La elección del tratamiento (Tabla 4) debe basarse en el estadio de la enfermedad (Solano-Gallego *et al.,* 2011).

Los principales fármacos empleados para el control de la leishmaniosis clínica son los antimoniales pentavalentes (antimoniato de meglumina), la miltefosina y el alopurinol. Como norma general diferenciamos los fármacos de primera línea en aquellos con acción leishmanicida (antimoniales y miltefosina) y los que tienen acción leishmaniostática (alopurinol).

Los fármacos leishmanicidas pueden emplearse en monoterapia, como agentes terapéuticos únicos; aunque lo más habitual es combinarlos para obtener mejores resultados. Lo más común es utilizar un fármaco leishmanicida para reducir la carga parasitaria y el alopurinol, leishmaniostático, para mantener las cargas parasitarias estables. En Europa el tratamiento más habitual es una combinación de antimoniato de meglumina y alopurinol (Cardoso *et al.,* 2022).

-Antimoniales pentavalentes: 75-100 mg/kg al día durante 4-6 semanas. Su mecanismo como leishmanicida no se conoce al completo, se sospecha que actúa dañando el ADN protozoario y produciendo la oxidación de los ácidos grasos (Solano-Gallego *et al.*, 2014), Pueden producir nefrotoxicidad, abscesos cutáneos, celulitis.

-Miltefosina: 2 mg/kg al día durante 4 semanas. Presenta una buena eficacia para el tratamiento de la leishmaniosis, aunque no en la eliminación del parásito (Campino *et al.*, 2018). Al igual que en el caso de los antimoniales pentavalentes, sus mecanismos de acción son desconocidos, aunque es capaz de inducir la muerte celular por apoptosis (Rodrigues *et al*., 2023). Suele utilizarse en perros con daño renal, por ser menos nocivo que los antimoniales en estos casos.

-Alopurinol: 10-20mg/kg cada 12 horas durante 6-12 meses. Se trata de una pirazolopirimidina, es decir, un análogo estructural de la hipoxantina que frena el desarrollo del parásito por producir la inhibición de las enzimas participantes en el metabolismo de las purinas. Una ventaja de este fármaco es su baja toxicidad y buena tolerancia., aunque en algunos animales puede producir xantinuria y nefrolitiasis por cristales xantina (Solano-Gallego *et al.,* 2018).

Entre las posibilidades terapéuticas, se han incluido inmunomoduladores, principalmente la domperidona, un antagonista dopaminérgico utilizado vía oral principalmente en perros en estadios tempranos de la enfermedad (Bleda*.,* 2021).

Tabla 4. Tratamiento recomendado para la leishmaniosis canina en función del estadiaje clínico (Solano-Gallego *et al.* 2018)

Estadío	Tratamiento recomendado
I	Evidencia científica limitada. Puede hacerse un tratamiento corto con fármacos de primera línea, ya sea en monoterapia o combinados (entre ellos o junto con inmunomoduladores).
II	Antimoniato de meglumina + Alopurinol Miltefosina + Alopurinol En caso de afección renal: seguir recomendaciones IRIS*.
III	Antimoniato de meglumina + Alopurinol Miltefosina + Alopurinol Recomendaciones IRIS para la insuficiencia renal crónica
IV	Tratamiento individualizado dependiendo la situación del paciente. Recomendaciones IRIS para la insuficiencia renal crónica

*IRIS: clasificación del grado de enfermedad renal crónica según las directrices de la *International Renal Interest Society*

El protocolo de monitorización de la leishmaniosis canina más habitual se realiza a los 30 días del inicio del tratamiento con la evaluación del impacto orgánico que los fármacos han tenido en el paciente. Constará de un examen físico completo, hemograma, perfil bioquímico, proteinograma y urianálisis, principalmente centrado en marcadores renales. Después se realizarán controles cada cuatro meses durante el primer año tras el diagnóstico, que incluyan los mismos parámetros (Castagnaro *et al.,* 2007). A los seis meses del inicio del tratamiento es recomendable hacer una serología cuantitativa para conocer cómo ha variado el título de anticuerpos anti-*Leishmania,* esta serología se repetirá cada seis meses (Solano-Gallego *et al.*, 2014). Si el paciente permanece estable, los controles clínicos y de título de anticuerpos pueden espaciarse seis meses durante el segundo año (Bleda, 2021).

2.9. PROFILAXIS

Al igual que el resto de las enfermedades transmitidas por vectores, la prevención de la leishmaniosis canina está íntimamente ligada al control de estos. Sin embargo, el control de la leishmaniosis es complicado ya que el ciclo biológico de los flebótomos dificulta su control en el ambiente. Esto es debido a que las fases inmaduras del vector habitan en sustratos orgánicos sólidos como excrementos de animales, grietas en el suelo, madrigueras, follaje en descomposición y cortezas de los árboles, entre otros (Maroli *et al*., 2013); siendo en su mayoría lugares sobre los que no está permitido el uso de insecticidas y cuya eliminación resulta complicada. Como consecuencia, el control vectorial está dirigido casi en su totalidad a la prevención de las picaduras de las hembras adultas (WHO, 2023). Otra estrategia consiste en el control del hospedador, es decir, limitar la capacidad infectante de los perros infectados, que se reduce cuando el animal se somete a controles periódicos que permiten determinar en qué momentos es necesario reiniciar el tratamiento. Las complicaciones asociadas a este método se relacionan con la presencia de portadores subclínicos y reservorios silvestres en áreas endémicas (Bleda, 2021).

-Control ambiental de los vectores: es eficaz a corto plazo mediante el uso de insecticidas, con la limitación de no ser útiles en espacios abiertos. Normalmente se utilizan piretroides sintéticos en forma de rociado residual intradomiciliario.

-Control contacto vector-hospedador: se basa en el uso de sustancias repelentes del vector. Son actualmente la herramienta más importante para la prevención de la infección por *L. infantum.* Principalmente se utilizan piretroides sintéticos, caracterizados por su eficacia como insecticida, baja toxicidad para los cánidos y adecuada actividad residual (Yimam *et al.,* 2020).. Concretamente, destacan las presentaciones en forma de pipeta (*spot on*) y de collares con sistemas de matriz de liberación lenta. En las soluciones *spot on* se usan permetrina e imidacloprid como principios activos, mientras que en los collares solemos encontrar combinaciones de imidacloprid + flumetrina o sólo deltametrina (Dantas-Torres *et al.,* 2019).

-Control de hospedadores infectados: Otro punto clave es el tratamiento de animales infectados que puedan transmitir la enfermedad en presencia de vectores. El uso de tratamientos leishmanicidas y leishmanostáticos está asociado con una menor carga parasitaria y, en consecuencia, con una menor infectividad del vector.

En el caso de perros procedentes de áreas no endémicas, pero que con cierta frecuencia viajan a zonas endémicas, se ha demostrado útil el uso de la domperidona como fármaco preventivo (Cavalera *et al.,* 2021). Su actuación en este caso se basa en preparar al sistema inmune para el contacto con el protozoo, evitando su acción patógena al replicarse en el organismo (Cavalera *et al.,* 2021).

En las últimas décadas se han llevado a cabo múltiples estudios (Mas *et al.*, 2023; Sun, *et al*., 2024) para intentar seleccionar los antígenos de *Leishmania* que pudieran utilizarse como candidatos vacunales. Se han elaborado vacunas inactivadas y otras preparadas con parásitos enteros o sus secreciones; cada una de las mismas con una efectividad variable. Sea como sea, su uso se ha asociado a una disminución de la incidencia de infección por *L. infantum* en perros de zonas endémicas. En España solo están autorizadas dos vacunas; *Letifend*, que utiliza la proteína Q recombinante de *L. infantum* y se administra de forma anual a partir de los 6 meses de edad; y *Neoleish*, autorizada a finales de 2023 (AEMPS, 2023). Esta última se trata de una solución para pulverización nasal cuyo principio activo es el ADN plasmídico superenrollado que codifica la proteína "Lack" de *L. infantum*. En ambos casos la primovacunación puede realizarse a partir de los 6 meses, con una segunda toma 2 semanas más tarde; la revacunación está indicada cada 6 meses tras la primovacunación (AEMPS, 2024).

2.10. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo de fin de grado fueron los siguientes:

1. Conocer cuál es la situación actual de la leishmaniosis canina en Galicia mediante la realización de encuestas a veterinarios clínicos.

2. Detectar si existen diferencias en la distribución de la leishmaniosis canina en esta comunidad autónoma.

3. Determinar el grado de conocimiento de la enfermedad por parte de los veterinarios clínicos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE MUESTREO

El área seleccionada para este estudio fue la comunidad autónoma de Galicia, situada en el noroeste de España y formada por cuatro provincias: A Coruña, Lugo, Ourense y Pontevedra. Galicia tiene 2.705.877 habitantes (Instituto Galego de Estadística) y 720.555 perros registrados en el Rexistro Galego de Identificación de Animais de Compañía (Regiac). Esta región presenta diversos microclimas debido a su geografía, ya que cuenta con temperaturas húmedas y suaves en la costa, y zonas más frías y secas en áreas interiores debido a las montañas. Galicia cuenta con una clara distinción entre sus zonas rurales y urbanas (González-Laxe, 2021). Las zonas rurales tienen una menor densidad de población con actividades económicas centradas en la agricultura y ganadería; coincidiendo con una geografía montañosa. Por otro lado, las áreas más

urbanas como Santiago de Compostela, Vigo y A Coruña están más densamente pobladas y poseen actividades industriales y comerciales (González-Laxe, 2021).

3.2. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LA ENCUESTA

Los datos empleados fueron obtenidos mediante una encuesta (Anexo 1) realizada a veterinarios de hospitales, clínicas y consultorios veterinarios con el objetivo de recopilar información relativa a la infección de leishmaniosis en las zonas encuestadas, así como para evaluar el grado de conocimiento de los clínicos sobre la enfermedad. Para ello se seleccionaron los centros en función de su localización espacial, de manera que estuvieran repartidas por toda la Comunidad Autónoma, y según la disponibilidad de los veterinarios (Figura 1). La encuesta se diseñó para obtener información concreta mediante preguntas cerradas de opción simple o múltiple. También se plantearon preguntas abiertas opcionales para conocer de forma más precisa la manera de cada veterinario clínico de manejar la enfermedad. La encuesta final contaba con un total de 30 preguntas (duración aproximada de 25 minutos) organizadas en cinco apartados en los que se preguntó sobre el número de casos nuevos al año y casos en seguimiento, factores de riesgo de la enfermedad, signos clínicos, diagnóstico, tratamiento específico y preventivo y medidas de prevención. La distribución de la encuesta estuvo disponible durante tres meses por medios digitales (Google Forms) y físicos (formulario impreso). Las encuestas digitales fueron compartidas a través de correos electrónicos utilizando la plataforma Outlook; las direcciones de correo electrónico de los encuestados fueron obtenidas en su totalidad mediante llamadas telefónicas. En todos los casos se informó a los participantes del propósito del estudio y se garantizó su anonimato.

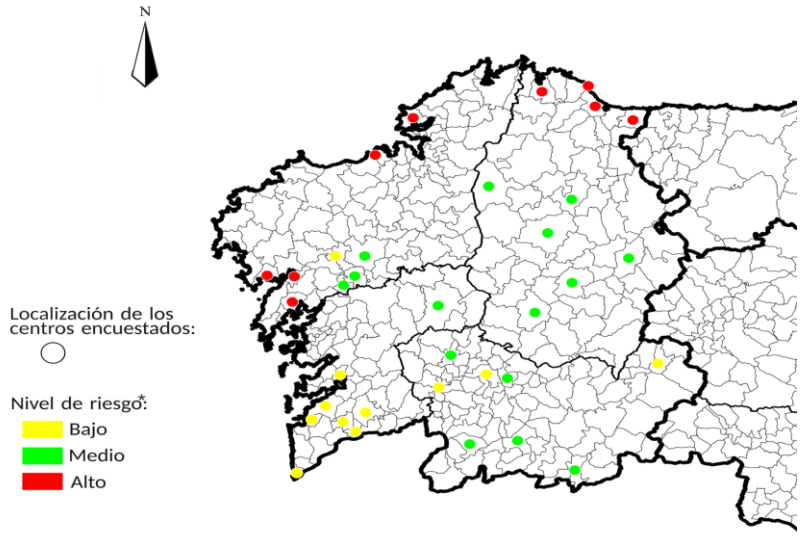

Figura 1. Distribución de los centros veterinarios encuestados y nivel de riesgo definido en la investigación realizada por (Rodríguez-Escolar *et al*., 2024).

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

La información obtenida tras la realización de los cuestionarios fue incluida en una hoja de trabajo de Excel (Office 2024, Microsoft). Los datos se filtraron y ordenaron empleando el mismo programa, que también se utilizó para elaborar las gráficas expuestas en el estudio empleando la opción "gráficos". El mapa mostrado como Figura 1, fue elaborado a partir de una imagen de dominio público (Licencia Creative Commons CC0) empleando el programa libre Inkscape (https://inkscape.org/).

Para determinar el grado de conocimiento sobre la enfermedad de los clínicos encuestados se seleccionaron cinco grupos de preguntas dentro de la encuesta: factores de riesgo, signos clínicos, tratamiento (comercial y principio activo) y medidas de prevención. Teniendo en cuenta que todas estas preguntas se presentaron como opciones de respuesta múltiple, se evaluó con un punto cada opción marcada correctamente y con -0,5 puntos cada opción incorrecta. Los resultados obtenidos por los veterinarios se expusieron en una nueva variable denominada "puntuación total" obtenida tras realizar la media de la puntuación de cada uno de los apartados anteriores sobre diez.

Los resultados obtenidos tanto individualmente, para cada uno de los grupos de preguntas, como la puntuación total obtenida se compararon teniendo en cuenta el riesgo de *Leishmania* spp. en la zona donde estaba situado el centro veterinario. Este riesgo se determinó en función del número de animales diagnosticados o en seguimiento del centro y en función del riesgo estimado en un metanálisis realizado por Rodríguez-Escolar *et al*., 2024 (Figura 1). Para ello, inicialmente se realizó un test de correlación de Pearson entre los tres indicadores de riesgo y posteriormente una regresión logística multinomial en la que se valoró la relación entre la puntuación total de cada uno de los veterinarios, así como las puntuaciones obtenidas para cada uno de los apartados definidos anteriormente, con la estimación del riesgo de *Leishmania* spp. para cada uno de los centros. Las variables fueron eliminadas del modelo inicial empleando un método condicional retrospectivo (función step()) basado el valor AIC (Akaike Information Criterion) hasta obtener el mejor modelo posible. El *odds ratio* se calculó elevando el valor e a la potencia del coeficiente logístico sobre la primera categoría de cada factor (categoría de referencia), no sobre la última.

Estos análisis estadísticos se realizaron empleando la función glmer() del paquete lme4 (Bates *et al*., 2014) en el programa estadístico R (R Development Core Team, 2023). El nivel de significación se estableció en valores $p \leq 0,05$ (p-values$\leq 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 89 veterinarios realizaron la encuesta. Específicamente 25 (28,09%) veterinarios ejercían su profesión en Pontevedra, 22 (24,72%) en A Coruña, 22 (24,72%) en Ourense y 20 (22,47%) en Lugo. Cuando los encuestados se clasificaron en función de las áreas de riesgo definidas por Rodríguez-Escolar *et al*. (2024), 19 (21,35%) pertenecían a zonas declaradas como riesgo alto, 40 (44,94%) como riesgo medio y 30 (33,71%) como riesgo bajo. De los veterinarios participantes en la encuesta, 28 (31,46%) declararon tener menos de un caso nuevo de leishmaniosis canina al año, 20 (22,47%) entre 1 y 2 casos nuevos/año, 18 (20,22%) entre 3 y 5 casos/año y 23 (25,84%) más de 5 casos al año. Además, 19 (21,35%) veterinarios indicaron que no tenían ningún paciente positivo a *Leishmania* spp. en seguimiento, 41 (46,07%) menos de 5 animales en seguimiento, 13 (14,61%) entre 5 y 10 casos, 7 (7,87%) entre 10 y 20 casos y 9 (10,11%) veterinarios le estaban realizando el seguimiento a más de 20 animales.

4.1. ANÁLISIS DE LOS INDICADORES DE RIESGO

Tras la obtención de las encuestas, se realizó un test de correlación entre los tres indicadores de riesgo evaluados (Tabla 5). Esta prueba indicó que el nivel de correlación entre el riesgo estimado mediante el número de casos diagnosticados por año y el número de casos en seguimiento era elevado siendo estas diferencias significativas. Sin embargo, la correlación entre estas dos variables y el indicador establecido en función de las zonas de riesgo descritas en el artículo de Rodríguez-Escolar *et al*. (2024) era negativa y también significativa. Estos resultados indican que los veterinarios encuestados con clínicas situadas en zonas de riesgo alto según la publicación citada anteriormente han declarado tener un menor número de casos nuevos de leishmaniosis al año y un menor número de animales en seguimiento que los veterinarios con clínicas situadas en zonas de riesgo de leishmaniosis bajo. Estos resultados son llamativos desde un punto de vista epidemiológico ya que era esperable que el número de casos de leishmaniosis canina fuera mayor en clínicas situadas en zonas de riesgo alto; sin embargo, es importante tener en cuenta que el número de casos puede variar en función del número de animales atendidos en la clínica de manera que, aunque la zona esté descrita como área de alto riesgo, el número de casos podría ser bajo si la clínica atiende a un reducido número de animales.

Tabla 5. Test de correlación entre las diferentes medidas de estimación de riesgo.

	Riesgo (Rodríguez-Escolar *et al*., 2024)		**Riesgo casos/año**		**Riesgo seguimiento**	
	cor*	*p***	cor	*p*	cor	*p*
Zonas de riesgo (Rodríguez-Escolar *et al*., 2024)	1,000	-	-		-	
Riesgo según número de casos/año	-0,234	**0,027**	1,000	-	-	
Riesgo según número de casos en seguimiento	-0,234	**0,027**	0,677	**<0,005**	1,000	-

*cor: correlación

**El nivel de significación se estableció en valores *p* (*p*-values) menores o iguales a 0,05.

Para analizar los resultados con mayor profundidad, se realizó una regresión logística multinomial en la que se valoró la relación entre las puntuaciones obtenidas por cada uno de los veterinarios para cada uno de los cinco grupos de preguntas formulados (factores de riesgo, signos clínicos, tratamiento comercial y principio activo y medidas de prevención) así como las puntuaciones totales, con las tres estimaciones del riesgo de *Leishmania spp*. para cada uno de los centros (Tablas 6, 7 y 8). Aquellas variables que no presentaban significación estadística fueron eliminadas del modelo en base al valor AIC del mismo.

Tras analizar las puntuaciones obtenidas en función de los niveles de riesgo definidos por Rodríguez-Escolar *et al*. (2024) se observó que los veterinarios con clínicas situadas en zonas de riesgo alto presentaban puntuaciones totales menores que los veterinarios con clínicas situadas en zonas de riesgo bajo y medio mostrando *odds ratios* menores a 1 (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis multinomial de las puntuaciones obtenidas por los veterinarios para los niveles de riesgo de leishmaniosis canina definidos por Rodriguez *et al*. (2024) en Galicia.

Categoría	**OR**	**CI95%**	***p*-value***
Riesgo bajo (referencia)			
Riesgo medio			
(Intercept)	7,23	1,00 – 52,35	**0,050**

Puntuación factores de riesgo	1,10	0,93 – 1,30	0,276
Puntuación total	0,65	0,41 – 1,04	**0,074**
Riesgo alto			
(Intercept)	12,06	1,06 – 137,80	**0,045**
Puntuación factores de riesgo	0,84	0,64 – 1,09	0,190
Puntuación total	0,46	0,25 – 0,85	**0,014**
Riesgo medio (referencia)			
Riesgo alto			
(Intercept)	1,67	0,20 – 13,94	0,632
Puntuación factores de riesgo	0,76	0,59 – 0,98	**0,037**
Puntuación total	0,70	0,40 – 1,24	0,217

*El nivel de significación se estableció en valores *p* (*p*-values) menores o iguales a 0,05.

Al analizar los resultados de la regresión obtenidos al establecer el nivel de riesgo de leishmaniosis en función del número de casos diagnosticados por centro, se observó que existían diferencias significativas en las puntuaciones totales obtenidas por los veterinarios en función de la zona de riesgo, de manera que aquellos veterinarios que diagnosticaban un mayor número de casos clínicos por año también presentaban unas puntuaciones totales mayores que los veterinarios que diagnosticaban menos casos al año. Específicamente, la detección de un animal positivo más por año supone una puntuación media total de más de un punto y medio (Tabla 7)

Tabla 7. Regresión lineal multivariable de las puntuaciones obtenidas por los veterinarios para los niveles de riesgo de leishmaniosis canina definidos en función del número de casos anuales diagnosticados por clínica en Galicia.

	Estimate	**t- value**	***p*-value***	**OR**	**CI95%**
(Intercept)	1,342	1,531	0,129	3,83	0,686- 21,339
Puntuación total	0,561	2,672	**0,009**	1,75	1,161- 2,643

*El nivel de significación se estableció en valores *p* (*p*-values) menores o iguales a 0,05.

Estos resultados coinciden con los observados tras analizar las puntuaciones obtenidas por los veterinarios en función del número de casos de leishmaniosis canina en seguimiento los cuales muestran una relación positiva significativa con respecto a las puntuaciones totales obtenidas (Tabla 8). Específicamente, un animal en seguimiento más supone una puntuación media total de más de cuatro puntos (Tabla 8).

Tabla 8. Regresión lineal multivariable de las puntuaciones obtenidas por los veterinarios para los niveles de riesgo de leishmaniosis canina definidos en función del número de casos en seguimiento por clínica en Galicia.

	Estimate	**t- value**	***p*-value***	**OR**	**CI95%**
(Intercept)	-0,0085	-0,003	0,998	0,99	0,005 - 189,479
Puntuación total	1,4685	2,290	**0,024**	4,34	1,236 - 15,262

*El nivel de significación se estableció en valores *p* (*p*-values) menores o iguales a 0,05.

No es sorprendente que exista una relación entre el número de animales diagnosticados por año y en seguimiento y el grado de conocimiento de los veterinarios, la detección de un animal positivo hará que el veterinario entienda que el parásito está presente en su zona y por lo tanto que es necesario mejorar su nivel de conocimiento sobre el mismo y estará más atento a la aparición de signos compatibles, por lo que el número de animales diagnosticados y en seguimiento será mayor. Sin embargo, llama la atención que exista una correlación negativa entre las zonas de riesgo epidemiológico (descritas por Rodríguez-Escolar *et al.*, 2024) y las puntuaciones obtenidas por los veterinarios. De este modo, aunque la no correlación entre los indicadores de riesgo podría deberse simplemente al número de animales atendidos por clínica, debería existir una relación positiva entre el nivel de conocimiento de los veterinarios y el riesgo de una zona. La leishmaniosis es una enfermedad transmitida por vectores con una epidemiología muy compleja dependiente de una gran cantidad de variables bióticas y abióticas lo que dificulta su estudio y control. De acuerdo al artículo publicado por Rodríguez-Escolar *et al.* (2024) uno de los factores más importantes a la hora de establecer áreas de riesgo para la aparición del vector es la presión humana, la cual depende a su vez de varias variables como la densidad de población, presencia de infraestructuras energéticas, tierras de cultivo y de pasto, etc, por lo que podría ser que alguna de estas variables, o la combinación de varias, sí tuviera influencia en la aparición de casos de leishmaniosis pero que no pueda explicar el modelo en su totalidad.

4.2. CONSIDERACIONES DE LOS VETERINARIOS SOBRE LA ENFERMEDAD

La encuesta realizada puede dividirse en cinco grandes apartados en los que se engloban diferentes aspectos relacionados con la epidemiología, signos clínicos, tratamiento preventivo (comercial y principio activo) y medidas de prevención de la leishmaniosis canina. A continuación, se describen y analizan los resultados obtenidos para cada uno de estos apartados.

4.2.1. Epidemiología

Cuando se les preguntó a los 90 veterinarios sobre cuál era la situación de su zona respecto a la leishmaniosis, el 28,09% respondió que era endémica, el 56,18% esporádica y el 14,61% que no estaba presente en su zona. Si comparamos estas respuestas con las zonas de riesgo descritas por Rodríguez-Escolar *et al.* (2024) empleando un test de correlación (Tabla 5), observamos que existen diferencias significativas respecto a la percepción de los veterinarios y la situación de la zona. En ese sentido (Figura 2), un total de 10,11% de los veterinarios que indicaron que la enfermedad no estaba presente pertenecen a una zona de alto riesgo según el estudio anteriormente citado; un 8,99% de los veterinarios que la consideran endémica pertenecen a zonas catalogadas como riesgo bajo y solamente el 20,22% de los veterinarios que la consideran esporádica pertenecen a zonas consideradas de riesgo bajo. Es decir, no existe una concordancia entre el riesgo percibido por los veterinarios encuestados en función del número de casos y el riesgo según Rodríguez-Escolar *et al.* (2024). Si tenemos en cuenta el riesgo indicado para cada una de las áreas según la publicación previamente citada, podemos concluir que los veterinarios situados en zonas de riesgo alto son los que tienen una percepción más errónea de la distribución de la enfermedad; mientras que los que se sitúan en zonas de bajo riesgo tienen una percepción adecuada e incluso sobrestimada del riesgo.

Sin embargo, como se indicó anteriormente (Tablas 7 y 8), es importante tener en cuenta que existe una relación significativa entre la percepción de riesgo de los veterinarios y el número de casos diagnosticados y en seguimiento por lo que los veterinarios que consideran que la enfermedad no está presente también son los que detectan menos casos clínicos y los que la consideran endémica también son los que más casos han detectado por lo que la determinación del riesgo por parte de los veterinarios no fue una respuesta dada al azar. Sin embargo, la correlación negativa significativa observada entre las zonas de riesgo definidas por Rodríguez-Escolar *et al.*, 2024 (Tabla 6) y el número de casos detectados y en seguimiento declarados por los veterinarios puede deberse a una definición inexacta de las zonas de riesgo o a una mala percepción de la enfermedad de manera que muchos animales podrían ser asintomáticos o, a pesar de presentar signos clínicos, no están correctamente diagnosticados. Además, como se dijo anteriormente, el número de casos detectados también va a estar sesgado por el número medio de animales atendidos en cada clínica.

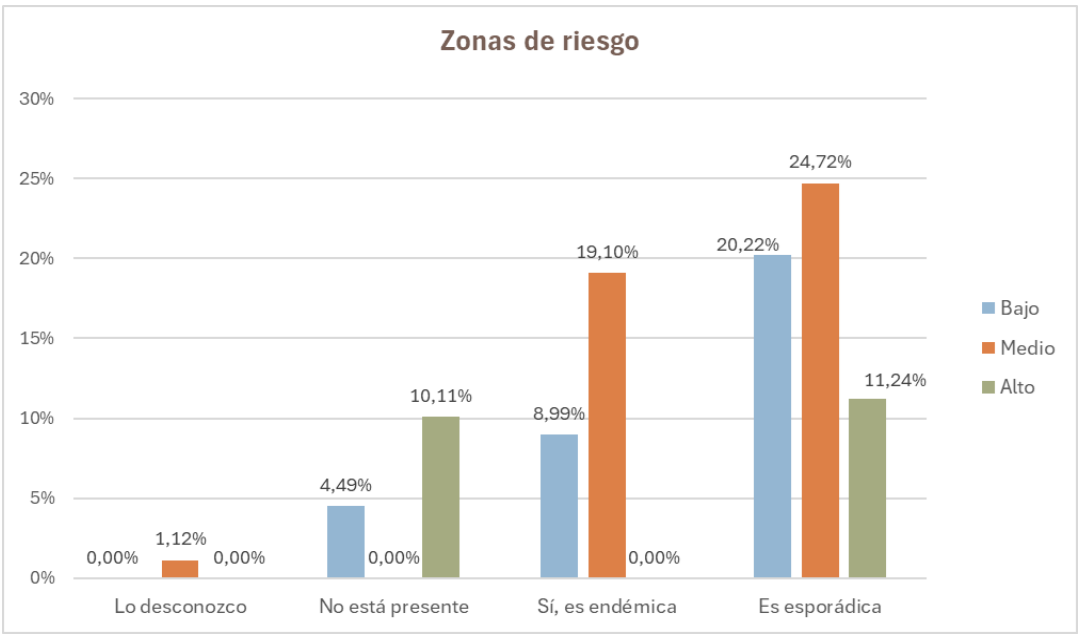

Figura 2. Percepción del riesgo en función de las zonas de riesgo definidas por Rodríguez-Escolar *et al.*, 2024

Hasta 2003 (Olmeda *et al.*, 2024) no se habían detectado casos autóctonos de leishmaniosis canina en la comunidad autónoma de Galicia, sin embargo, trabajos publicados en los últimos años determinaron que existían zonas de riesgo alto e incluso detectaron, en determinadas áreas de la provincia de Ourense, prevalencias similares y superiores a las detectadas en el centro y sur de la península (Gálvez *et al.*, 2020; Rodríguez-Escolar *et al*., 2024). Aunque no se pueden ofrecer cifras exactas con los resultados de la presente encuesta, sí podemos destacar que solamente un 14,61% de los veterinarios consideran que el patógeno no está presente en su zona, por lo que la mayoría de los veterinarios tendría en cuenta esta enfermedad a la hora de realizar un diagnóstico diferencial. La percepción de las zonas de riesgo de leishmaniosis ha cambiado tras la detección del patógeno en áreas que tradicionalmente no se consideraban endémicas. De este modo, se ha observado que un 40% de los carnívoros silvestres de Asturias, zona considerada libre de leishmaniosis, son portadores de *Leishmania* (Oleaga *et al.*, 2018) lo cual implica que el ciclo biológico del vector puede llegar a mantenerse en estas áreas. Estos cambios en la distribución de la enfermedad se asocian principalmente al aumento progresivo de las temperaturas, que permiten al vector colonizar zonas en las que antes no se encontraban y donde el parásito es capaz de mantenerse empleando reservorios (Gálvez-Esteban *et al*., 2020).

Por otro lado, podemos afirmar que la infección se distribuye de forma heterogénea entre las diferentes provincias gallegas. Los veterinarios que menos casos declararon detectar son los de la provincia de A Coruña donde un 32% de los veterinarios no creen que este patógeno esté presente y solo un 19% de encuestados declararon detectar más de dos casos nuevos al año. Todos los

encuestados de la provincia de Pontevedra consideraron que la enfermedad estaba presente, provincia en la que más de un 36% de los encuestados detectaron más de dos casos nuevos anuales. Por el contrario, en la provincia de Lugo un 12% de los veterinarios consideró que la enfermedad no estaba presente en su zona al mismo tiempo que un 30% de los veterinarios declararon detectar más de dos casos nuevos anuales. Sin embargo, un 91% de los encuestados en la provincia de Ourense, donde existe una gran campaña de concienciación de la enfermedad promovida a partir de la detección de elevadas prevalencias en animales domésticos (Gálvez *et al*., 2020), declaran detectar más de dos casos nuevos anuales. Cabe destacar que, si tenemos en cuenta el número de animales positivos detectados en los centros, parece existir un agrupamiento de los casos positivos en ciertas zonas como Saviñao (Lugo), el sureste de la provincia de Pontevedra, los alrededores del embalse de Cachamuíña (Pereiro de Aguiar, Ourense), Verín (Ourense) y Valdeorras (Ourense). Un detalle relevante es que las zonas mencionadas anteriormente coinciden con áreas de interior, donde las temperaturas varían mucho más entre estaciones que en la costa, discrepando con las condiciones más favorecedoras para el vector (Maroli *et al*., 2013).

Un 79,78% de los encuestados considera que la enfermedad no presenta un patrón estacional (Figura 3). Aunque el ciclo de transmisión de la leishmaniosis está directamente relacionado con el ciclo biológico de los flebótomos, que sí tiene un componente estacional, la aparición de manifestaciones clínicas de la enfermedad es muy heterogénea entre individuos y el periodo de prepatencia es muy variable lo que puede provocar un desfase entre el momento de infección y de diagnóstico de la enfermedad, lo que podría llevar a una falsa percepción de la ausencia de estacionalidad (Solano-Gallego *et al.*, 2014; Gálvez *et al.*, 2020).

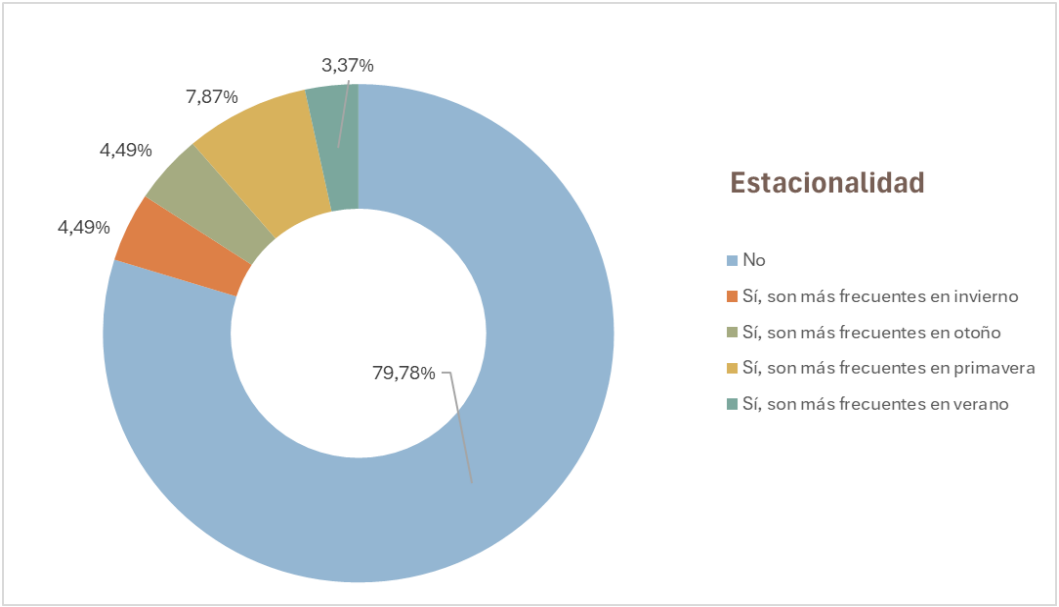

Figura 3. Percepción de la estacionalidad de la infección por *L. infantum*

Dentro del grupo de veterinarios que sí consideran que existe un patrón estacional, un 7,87% indican que existe una mayor detección de casos en primavera, seguida por un 4,9% que lo asocian al otoño, un 4,9% al invierno y, finalmente, un 3,37% de los encuestados consideran que el pico de la enfermedad ocurre en verano. En climas con una diferencia de temperatura relevante entre estaciones, como es el caso de España, los flebótomos predominan en aquellos meses más cálidos, principalmente entre mayo y octubre (Fernández-Bellón *et al*., 2008). Si tenemos en cuenta que el tiempo medio de prepatencia de la leishmaniosis canina se encuentra entre los 2 y los 6 meses, lo esperado sería observar la aparición de signos clínicos a finales del verano y principios del otoño. Sin embargo, la falta de consenso entre la información proporcionada por veterinarios clínicos y la bibliografía, llevó a Fernández-Bellón *et al*. (2008) a realizar varios estudios acerca de la estacionalidad de la infección y la respuesta inmune de los animales infectados. Los resultados de estos autores mostraron que no existían variaciones en los niveles de anticuerpos en los perros a lo largo del año, sugiriendo que podrían realizarse estudios epidemiológicos en cualquier momento del año ya que no existen variaciones significativas entre estaciones.

Una posible explicación para estos resultados es que en zonas endémicas predomina una la forma crónica de la enfermedad caracterizada por la ausencia de signos clínicos y niveles bajos de anticuerpos, lo que da lugar a la existencia de animales que ya están infectados pero no presentan signos clínicos haciendo que la detección de la enfermedad a lo largo del año sea estable (Bleda, 2021; Zoonoses Control Center 2021). Por el contrario, en un estudio realizado por Olmeda *et al*. (2024), llevado a cabo durante 20 años en la comarca de Valdeorras (Ourense), se observó un aumento del número de casos detectados durante los meses siguientes a los de máxima actividad del vector. Es llamativo que, en el presente trabajo, la mayoría de los veterinarios encuestados que consideran que la enfermedad es estacional (55%) trabajan en la provincia de Ourense. Teniendo en cuenta que esta es la provincia gallega considerada de mayor "riesgo" (Gálvez *et al*., 2020; Rodriguez-Escolar *et al*., 2024), presentando muchas zonas endémicas, la relación entre la endemia y la ausencia de estacionalidad parece no ser tan contundente, reafirmando la necesidad de nuevas investigaciones para entender la dinámica estacional de la infección. Además, es importante tener en cuenta que la declaración pública de Ourense como zona endémica podría hacer que los veterinarios estuvieran más atentos a la aparición de signos clínicos compatibles durante todo el año, mientras que lo esperado en zonas consideradas no endémicas es que la infección ocurra durante los meses de vuelo de los flebótomos periodo durante el cual surgirían la mayoría de las sospechas de la enfermedad.

En lo que se refiere a la distribución espacial de la enfermedad, un 54% de los encuestados considera que no existe una distribución espacial de la leishmaniosis dentro de su zona. Cuando se les preguntó a los que sí consideran la distribución espacial qué factores consideraban de riesgo

para la presencia de la *Leishmania* en una zona concreta, un 33% asociaron el riesgo a la existencia de agua, un 26% a otros perros positivos en el área y un 14% a la convivencia con perros positivos.

La asociación entre la distribución espacial y la presencia de agua (33%) es hasta cierto punto adecuada, ya que los flebótomos crían en zonas húmedas con materia orgánica; sin embargo, esto no quiere decir que requieran concentraciones de agua como tal, no siendo un factor necesario en su desarrollo (Nicolini *et al*., 2020). Es probable que los veterinarios encuestados le den tanta importancia a la presencia de agua por una confusión entre los requerimientos biológicos de los flebótomos (*Psychodidae*) y de los mosquitos (*Culicidae*), ya que el ciclo biológico de éstos últimos depende de forma directa y necesaria del agua, lugar donde las hembras depositan sus huevos y único medio que garantiza la supervivencia de sus larvas (Gálvez *et al.*, 2020)

Un 26% de los encuestados relacionó el riesgo de infección con la presencia de perros positivos en el área, mientras que un 14% con la convivencia con perros positivos. Si bien es lógico pensar que, en presencia del vector, una mayor densidad de población canina positiva conlleva un mayor riesgo de infección, hay que recalcar que no hay ninguna prueba sólida de que exista el contagio por contacto directo perro-perro (Solano-Gallego *et al.;* 2014). Un porcentaje tan alto de respuestas positivas podría deberse entonces a la creencia errónea de que el contagio por contacto directo sí ocurre o de que las posibilidades de contagio a través del vector al convivir con otros perros positivos sean mayores. Se debe tener en cuenta que aún en presencia del vector, las hembras se alimentan normalmente cada 3 o 5 días y tardan aproximadamente una semana tras la infección en ser infectivas (Nicolini *et al.,* 2020) de manera que en zonas endémicas el efecto producido por la presencia de un perro positivo en un mismo hogar es reducida. Además, el tratamiento de perros infectados reduce su infectividad (Dantas-Torres *et al.,* 2012; Petersen, 2020), especialmente si se mantiene el tratamiento con alopurinol tras el empleo de fármacos leishmanicidas (Solano-Gallego *et al.,* 2014). Del mismo modo, las vías de transmisión no vectoriales probablemente sólo tengan un papel marginal en la epidemiología de la leishmaniosis canina por lo que, salvo en condiciones específicas, se consideran poco frecuentes (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

Solamente 13% de los encuestados consideran factores de riesgo la cercanía a zonas boscosas y un 10% a la presencia de paja y rastrojos. Estas opciones fueron incluidas en la encuesta debido a las peculiaridades del ciclo biológico del vector, ya que los flebótomos suelen refugiarse en las inmediaciones de las zonas de cría, que situan en lugares con acumulación de materia orgánica en descomposición, raíces de árboles, follaje y madrigueras de animales, entre otras (Alexander *et al*., 2018). Sin embargo, es especialmente llamativo que solamente un reducido número de los veterinarios encuestados marque estas opciones, lo que podría estar sugiriendo nuevamente que existe una confusión entre los ciclos biológicos de flebótomos y mosquitos.

Una minoría de los encuestados asoció otras variables como un bajo nivel socioeconómico, el cambio climático, la presencia del vector, la falta de prevención y los desplazamientos a zonas endémicas a la aparición de casos clínicos de leishmaniosis en su zona. La presencia del vector y el cambio climático son dos respuestas intrínsecamente relacionadas, ya que se ha comprobado en múltiples ocasiones (Olmeda *et al*., 2020; Rodriguez-Escolar *et al*., 2024) que el aumento de la temperatura media brinda al vector la oportunidad de alargar su actividad durante una época más prolongada y de establecerse en zonas en las que antes no sobrevivirían (Nicolini *et al.*, 2020). Así mismo, la falta de prevención y los desplazamientos a zonas endémicas equivalen a una exposición directa del perro a áreas con mayor densidad vectorial, por lo que estas variables son factores de riesgo perfectamente lógicos; el mismo razonamiento se puede aplicar a la falta de tratamientos preventivos. Por último, se menciona como factor de riesgo un bajo nivel socioeconómico; si bien en el caso de la leishmaniosis humana las condiciones de vida precarias, falta de sistemas de gestión de deshechos y hacinamiento contribuyen a un mayor riesgo de infección (World Health Organization), no hay estudios que profundicen en su influencia en la leishmaniosis canina en países desarrollados. Es lógico pensar que propietarios de perros en situaciones similares a las mencionadas (menos del 1,12% de la población española según la Real Sociedad Canina de España), tendrán a sus mascotas expuestas a un mayor riesgo de contraer la enfermedad; sin embargo, las cifras son insignificantes si las comparamos a países subdesarrollados en las que la enfermedad es endémica (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

4.2.2. Signos clínicos

Los signos clínicos más frecuentemente asociados con la leishmaniosis según los veterinarios encuestados se relacionan positivamente con la bibliografía (Figura 4). El primer lugar lo ocupan las lesiones cutáneas (84,3% de los encuestados) coincidiendo con estudios epidemiológicas previos (90%; Solano-Gallego *et al*.; 2014). Además, un 59,6% de los veterinarios mencionó la caspa generalizada, signo asociado a la dermatitis descamativa (Ordeix *et al*., 2017). Un 76,4% de los encuestados también destacaron la onicogrifosis (alteraciones en el grosor y curvatura de las uñas), elección consistente teniendo en cuenta que la mayoría de los perros con onicogrifosis poseen coomorbilidades cutáneas asociados a la leishmaniosis, especialmente dermatitis descamativas o ulcerativas (Ordeix *et al*., 2017). Al contrario que otros signos inespecíficos, la onicogrifosis suele asociarse a fases avanzadas de la enfermedad (Oliveira *et al.*, 2021).

El segundo lugar según los encuestados lo ocupan signos sistémicos como la pérdida de peso (78,7%) y la linfadenomegalia (73%) (Figura 4). La sintomatología sistémica inespecífica suele asociarse con fases tempranas en el desarrollo de la enfermedad; sin embargo, son elementos que persisten en el resto de estadíos a medida que aparecen otros signos clínicos más específicos de

la infección por *Leishmania* (Solano-Gallego *et al.*, 2014) De forma similar, más de la mitad de los encuestados señaló alteraciones asociadas a estadios avanzados y/o crónicos de la enfermedad (estadios III y IV), como el daño renal (70,8%), las alteraciones oculares (57,3%) o la artritis (50,6%); todas ellas causadas por el acúmulo de inmunocomplejos en los riñones, ojos y articulaciones respectivamente. Es importante aclarar que en zonas endémicas prácticamente cualquier signo clínico podría ser compatible con esta enfermedad; por ello esta patología debería incluirse en el diagnóstico diferencial sin esperar a la aparición de signos clínicos propios de fases avanzadas (consecuencia de los niveles elevados de anticuerpos) y, por lo tanto, de la enfermedad renal secundaria, asociada a un pronóstico de reservado a grave (Solano-Gallego *et al*., 2009).

En general, los signos clínicos asociados a estadios crónicos son más comunes en zonas endémicas, donde los perros están frecuentemente expuestos a flebótomos infectados, aumentando las posibilidades de reinfección o persistencia del parásito en el organismo (Solano-Gallego *et al*., 2014). Además, muchos perros infectados desarrollan una respuesta inmune inefectiva mediada por Th2, es decir, generan cierta tolerancia inmunológica, permitiendo que la enfermedad se cronifique (Solano-Gallego *et al*., 2021; Lima *et al.*, 2022). Uno de los problemas dermatológicos más comunes en zonas endémicas, que a menudo se asocia a la leishmaniosis canina es la dermatitis papular, caracterizada por lesiones papulares que acaban ulcerándose distribuidas habitualmente por la cara interna de las orejas, labios, párpados, plano nasal y abdomen (Solano-Gallego *et al.*, 2014). Si extrapolamos esta descripción a los resultados de la encuesta, un 56,2% de los veterinarios indicaron las lesiones cutáneas corporales no simétricas; un 44,9% lesiones cutáneas asimétricas próximas a ojos, nariz y orejas; y un 25,8% lesiones ulcerativas bucales. Sin embargo, no conocemos los detalles morfológicos de las lesiones, por lo que, aunque nos proporciona información relevante, no es conclusiva.

Los signos menos frecuentemente asociados con la leishmaniosis en la encuesta (Figura 4) coinciden con las manifestaciones menos frecuentes de la leishmaniosis (síntomas gastrointestinales y alteraciones neurológicas). Por otro lado, signos clínicos extremadamente poco frecuentes como los nódulos subcutáneos (Bleda, 2021), las lesiones cutáneas corporales simétricas y las petequias y equimosis (Solano-Gallego *et al.*, 2014), fueron elegidos por aproximadamente un 20% de veterinarios.

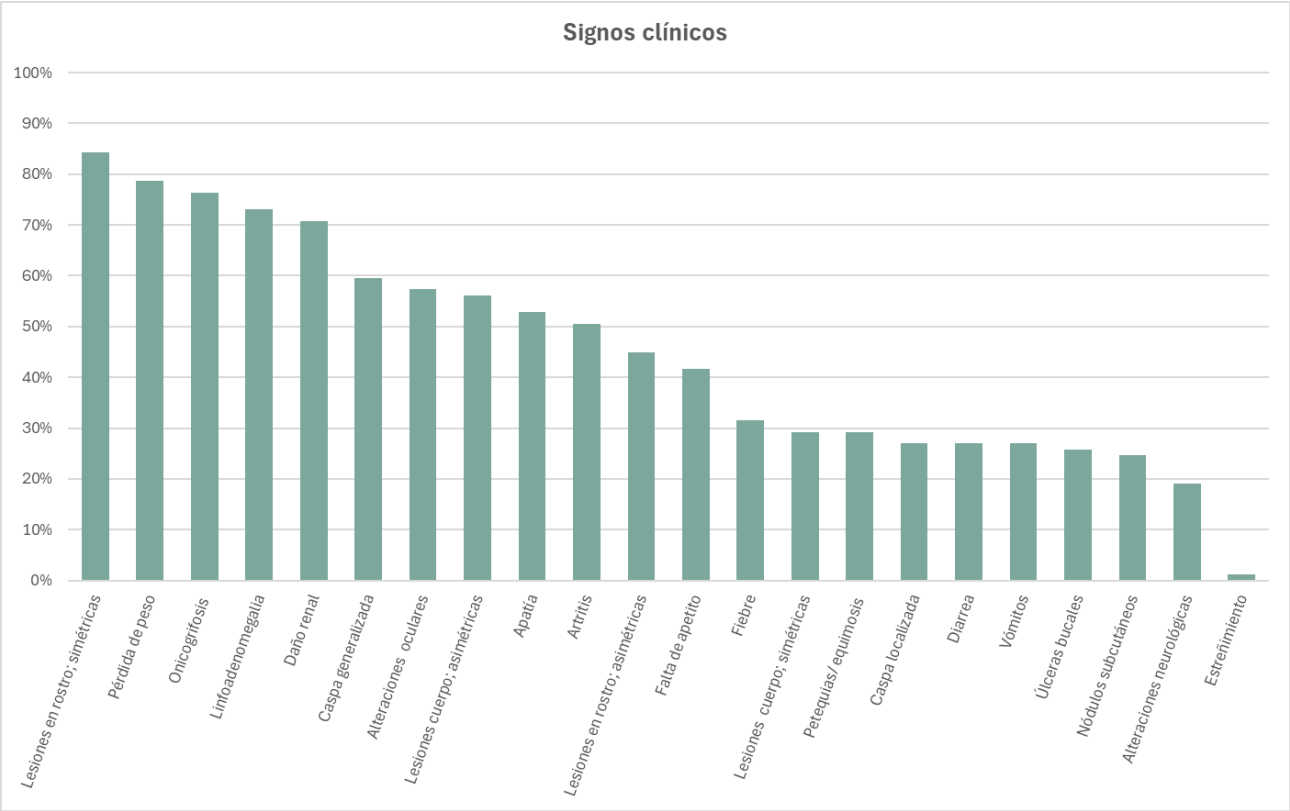

Figura 4. Frecuencia con la que los signos clínicos han sido elegidos por los encuestados

De manera general podemos considerar que los resultados de la encuesta muestran que hay un nivel de conocimiento heterogéneo, ya que los signos asociados a las fases crónicas o terminales de la enfermedad son mejor reconocidos que aquellos signos sistémicos asociados a fases tempranas. Del mismo modo, se asocian a la enfermedad con una frecuencia variable signos clínicos que apenas pueden relacionarse con la enfermedad según la bibliografía (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

4.2.3. Tratamiento y prevención

En lo que respecta al tratamiento clínico de la leishmaniosis, el fármaco más frecuentemente empleado fue el alopurinol (91%). Esto puede ser debido a que es un fármaco que puede ser empleado en todos los estadíos de la enfermedad proporcionando una reducción de la infectividad de los perros positivos por su efecto leishmanostático (AEMPS, 2024). La mayoría de los veterinarios que optaron por la combinación de fármacos eligieron alopurinol con antimoniato de meglumina (71%), mientras la combinación con miltefosina (34%) quedó en un segundo plano. Los encuestados no seleccionaron el antimoniato de meglumina en monoterapia, combinándolo siempre con alopurinol. Esta última combinación de fármacos es la más popular en Europa

(Cardoso *et al*.; 2022), recomendada por el grupo Leishvet (Solano-Gallego *et al.* 2017) en los estadios II y III de la enfermedad, siempre que no resulte incompatible con el cuadro clínico del paciente en concreto. Además, actualmente se considera la terapia farmacológica más efectiva para el tratamiento de la leishmaniosis canina (Solano-Gallego *et al.,* 2018)

Cuando se preguntó a los encuestados sobre las medidas preventivas de preferencia, la más popular fue el uso de repelentes externos (93,26%). Este enfoque coincide con la eficacia probada de productos a base de piretroides como la deltametrina o la permetrina (Miró *et al*., 2017). En lo que se refiere a principios activos, un 88% de los veterinarios eligieron los piretroides como el tratamiento más eficaz. Además, un 21% nombra el imidacloprid, un 11% el fipronilo y un 10% las lactonas macrocíclicas, dejando el 3% restante a las isoxazolinas. Sin embargo, es importante tener en cuenta que ninguno de estos dos últimos fármacos, aunque aparecen en presentaciones comerciales junto a piretroides, no presentan ninguna efectividad frente a flebótomos (Solano-Gallego, 2001)

Los veterinarios encuestados también mostraron preferencia por presentaciones comerciales que contienen piretroides, concretamente los collares (86%) y pipetas (62%). Los collares de liberación lenta impregnados con insecticidas han demostrado ser efectivos en la prevención de la leishmaniosis, evitando la picadura de los flebótomos (Solano-Gallego, 2001; Bleda., 2021). Estos collares suelen utilizar piretroides, siendo los más populares los impregnados con deltametrina, pudiendo llegar a reducir en un 54% la incidencia de la leishmaniosis canina (Yimam *et al.,* 2020). Además, aquellos que en su composición cuentan además con imidacloprid y flumetrina, muestran una efectividad de hasta el 90% en su efecto repelente durante aproximadamente seis meses (Stanneck *et al*., 2012; Yimam *et al*., 2020). Ese mismo efecto sinérgico se ha demostrado en las formulaciones "*spot on*" (pipetas), con una eficacia similar a los collares de liberación lenta, pero cuya administración debe repetirse de manera mensual (Dantas-Torres *et al.,* 2019). A pesar de que la eficacia de collares y pipetas con formulaciones apropiadas es similar a la hora de prevenir la picadura de flebótomos, los collares son más utilizados que las pipetas. Esto posiblemente se deba a su mayor duración (entre 4 y 8 meses dependiendo de la marca y formulación), facilidad de uso, protección continuada a medida que se liberan los principios activos (AEMPS, 2024) y un mayor margen coste-beneficio. Las pipetas en cambio suelen requerir una administración mensual con periodos en los que el perro no se puede mojar y pueden perder su efecto si el animal está sometido a baños frecuentes (AEMPS, 2024).

Las respuestas dadas por los veterinarios respecto a la selección del principio activo coinciden con la selección de las preparaciones comerciales de los fármacos (Figura 5). De este modo, los preparados comerciales más frecuentemente seleccionados fueron el collar Seresto-Bayer (71%) y la solución "*spot on*" Vectra 3D® (47%), que contienen imidacloprid y flumetrina; junto con el

collar Scalibor-MSD® (51%), cuyo principio activo es la deltametrina. Frontline triAct® (fipronilo + permetrina) fue elegido por un 25% y Advantix-Bayer® (imidacloprid + permetrina) por un 16%. El 13% de los encuestados no mostraron preferencias por ningún producto en concreto. Además, un 16% de los encuestados declararon emplear otros productos comerciales para prevenir la leishmaniosis, entre los que destacan las vacunas y el uso de inmunoestimulantes, especialmente si se va a producir un desplazamiento a zonas endémicas. Aunque es importante tener en cuenta que ni las vacunas ni los inmunoestimulantes pueden ser empleados para prevenir la infección.

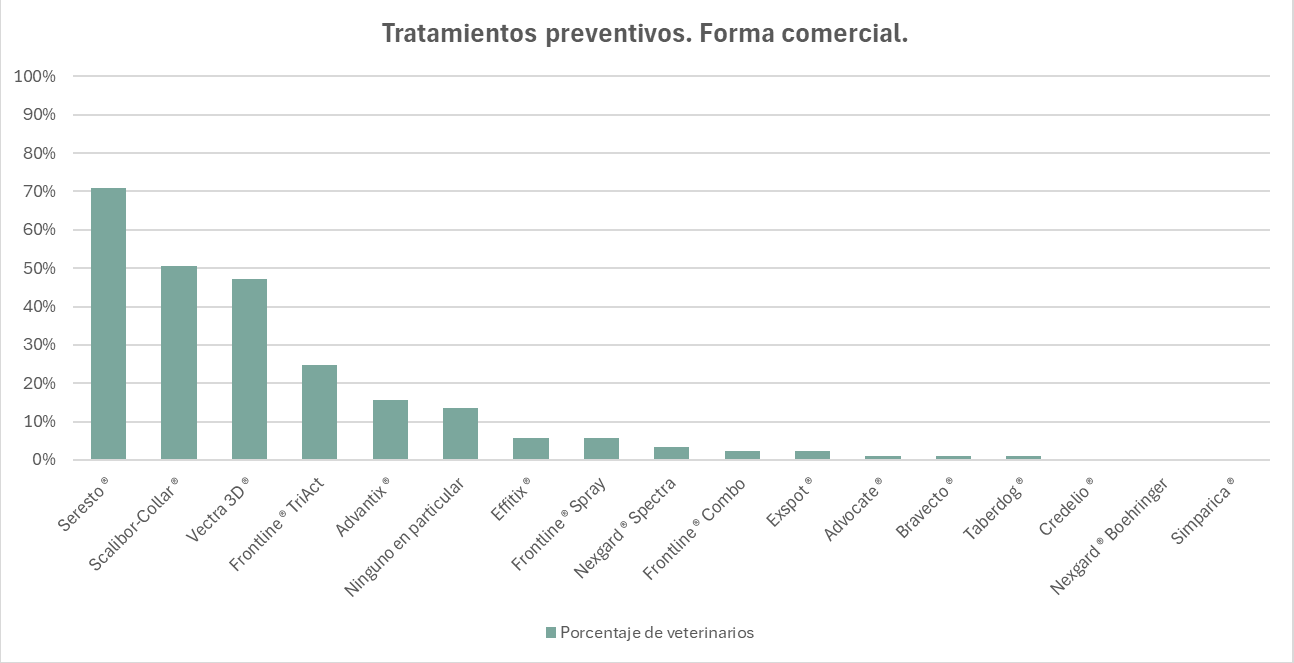

Figura 5. Formas comerciales de preferencia para la profilaxis química.

Otras medidas preventivas mencionadas en la encuesta fueron aquellas orientadas al control ambiental (Figura 6), estas se basan en disminuir la densidad del vector y evitar su contacto con el hospedador. Las medidas más comúnmente citadas por los encuestados, excluyendo el uso de principios activos con efecto repelente, fueron evitar pasear al amanecer o al atardecer (71,91%), la eliminación de zonas con agua (43,82%) y el uso de mosquiteras (38,20%).

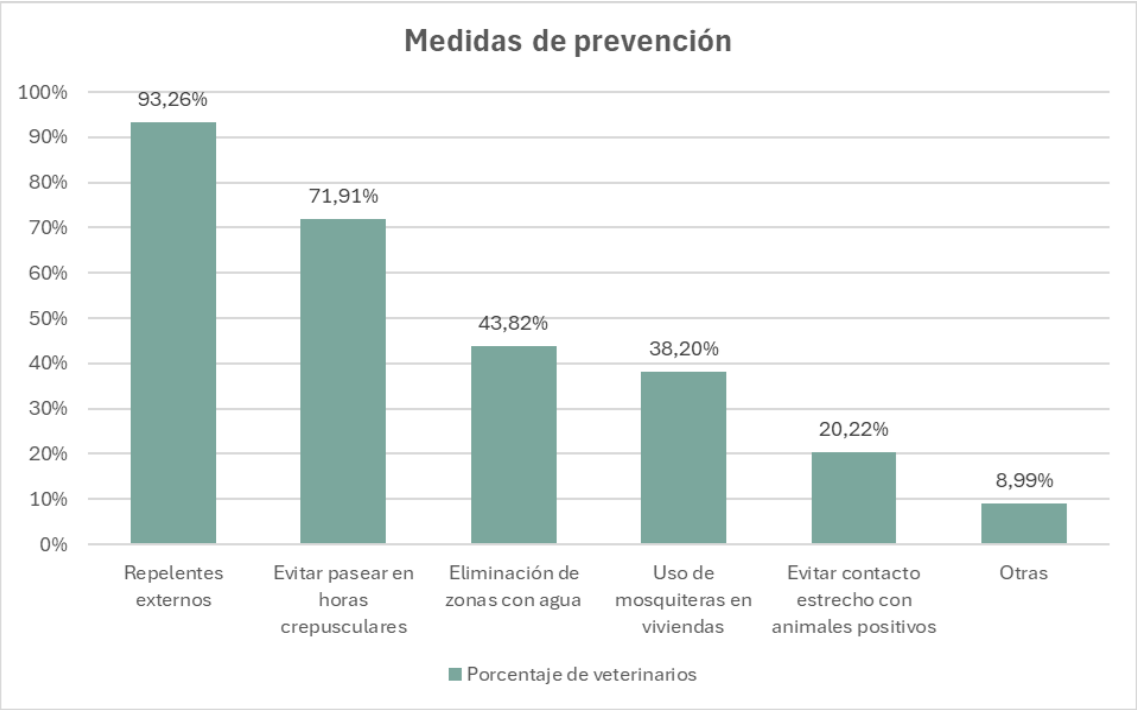

Figura 6. Porcentaje de veterinarios que seleccionaron cada una de las medidas de prevención de la leishmaniosis canina citadas en la encuesta.

Aunque en las estrategias de control vectorial es esencial el uso de repelentes e insecticidas, es importante destacar que otras medidas de protección adicionales que permitan el control de los flebótomos adultos son eficaces a la hora de reducir significativamente la incidencia de la leishmaniosis (Solano-Gallego *et al*., 2014). Por el contrario, el control ambiental de los estadios larvarios de los flebótomos resulta complicado ya que los microhábitats de las larvas y pupas son muy variados (Nicolini *et al.*, 2020). Una forma útil de disminuir la población vectorial es reducir aquellos lugares que puedan ser empleados como zonas de cría como grietas de las edificaciones, muros de piedra, restos de material orgánico, etc. (Alexander *et al*., 2018). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la eliminación de zonas con agua, medida efectiva a la hora de reducir las poblaciones de mosquitos, no es necesariamente útil para reducir las poblaciones de flebótomos ya que, si bien estos son más abundantes en zonas con humedad relativa alta, no requieren de la existencia de masas de agua para reproducirse (Feliciangeli *et al*., 2004).

Otra medida popular a tener en cuenta es la modificación de los horarios en los que los perros están expuestos; los momentos de mayor actividad diaria de la mayor parte de especies de flebótomos son el amanecer y el atardecer (Nicolini *et al.*, 2020). Si evitamos la exposición en estos momentos disminuimos la posibilidad de que el perro entre en contacto con el vector y, por ende, el riesgo de contagio (Alexander *et al*., 2018).

El uso de mosquiteras puede ser interesante a la hora de prevenir picaduras, sobre todo si están impregnadas de repelentes como la deltametrina (Alexander *et al.*, 2018). Sin embargo, menos de la mitad de los veterinarios seleccionaron esta medida (Figura 6). Esto podría deberse a que muchos de los veterinarios encuestados tienen la clínica situada en zonas rurales donde un gran porcentaje de perros habitan fuera de las viviendas durante todo el año lo que imposibilita la colocación de telas mosquiteras.

El 20% de los veterinarios encuestados (Figura 6) eligió como medida preventiva evitar el contacto estrecho con otros perros positivos; si bien experimentalmente se ha comprobado que la transmisión de *L. infantum* puede darse de forma no vectorial (vertical, venérea y mediante transfusiones), son vías de transmisión sin importancia desde un punto de vista epidemiológico (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

Dentro de las medidas preventivas propuestas por los veterinarios diferentes a las indicadas en la encuesta destaca el uso de domperidona o extractos de *Artemisia annua* (Knowles *et al.*, 2021). Aunque la domperidona es un fármaco que ha mostrado cierta efectividad tanto en etapas tempranas de la enfermedad como en tratamiento preventivo previo a un desplazamiento a zonas endémicas (Solano-Gallego *et al*., 2011; Bleda, 2021), existen pocos estudios sobre la utilidad de *A. annua* en la prevención y tratamiento de la leishmaniosis clínica (Medkour *et al*., 2020; Rodrigues *et al*. 2023). Sin embargo, es importante tener en cuenta que ninguno de los dos tratamientos son eficaces a la hora de prevenir la picadura de flebótomos y por lo tanto no previenen la infección. Finalmente, uno de los veterinarios encuestados propuso como método preventivo el uso de plantas de citronela *(Cymbopogon citratus)* como repelentes naturales de los flebótomos. Si bien ha habido estudios *in vitro* sobre la eficacia de extractos de estas plantas como repelentes, no han sido probados en el caso de la transmisión de la leishmaniosis canina (Miró *et al.*, 2017).

4.2.4. Diagnóstico y seguimiento

En el proceso diagnóstico de la leishmaniosis predomina el uso de técnicas serológicas indirectas (46,67%) tanto cuantitativas (74%) como mediante test rápidos (73%), seguidos de métodos de biología molecular como la PCR (35%) y el diagnóstico directo por muestras de aspiración (22%) (Figura 7).

La preferencia de las técnicas serológicas para el diagnóstico de la leishmaniosis canina va en línea con la accesibilidad, coste y rapidez de estas herramientas, especialmente relevantes en un contexto clínico. Los test rápidos (serología cualitativa), aunque útiles, poseen una sensibilidad variable, con el consiguiente riesgo de falsos negativos (Solano-Gallego *et al*., 2011). Sin embargo, esta opción ha sido seleccionada por el 73% de los veterinarios lo que podría deberse a

su rapidez, la comodidad del formato, la fácil lectura e interpretación de los resultados, su elevada especificidad y a su bajo coste. Aunque otra explicación factible para su popularidad sería que es la técnica recomendada para conocer el estado de los animales previo a la vacunación, es improbable que la preferencia de los veterinarios encuestados se deba a esto ya que, según las encuestas, solamente el 58,43% de los mismos recomiendan el uso de vacunas como tratamiento preventivo. Aunque los test rápidos ofrezcan muchas ventajas a la hora de emplearse como técnica de diagnóstico de la leishmaniosis canina, es importante tener en cuenta que un resultado positivo en esta prueba debe comprobarse mediante serología cuantitativa (Solano-Gallego *et al*., 2014).

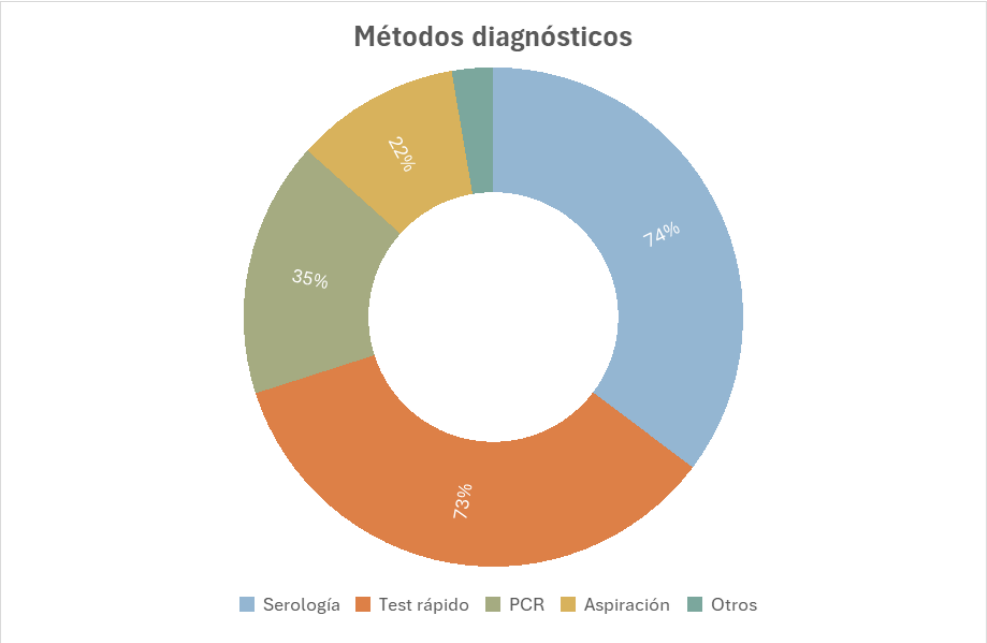

Figura 7. Métodos diagnósticos seleccionados por los veterinarios encuestados.

Las técnicas moleculares parecen no ser las más empleadas por los veterinarios lo que podría estar relacionado con su elevado coste y su poca utilidad como prueba de confirmación de la enfermedad clínica, ya que un resultado positivo indica únicamente la infección (Solano-Gallego *et al*., 2014). Del mismo modo, aunque la citología es una técnica confirmatoria a la hora de determinar si un animal es positivo a *Leishmania* spp. presenta una baja sensibilidad y, al igual que ocurre con las técnicas moleculares, requiere de la utilización de otras pruebas diagnósticas que permitan conocer el nivel de afectación del animal y por lo tanto su estadiaje clínico (Pumahuanca, 2024).

Respecto al seguimiento de la enfermedad, la mayoría de los encuestados (64%) realizan pruebas de seguimiento semestralmente, mientras que un 36% eligen realizarlas una vez al año, un 9% de forma mensual y un 7% eligen una combinación de las opciones anteriores dependiente

del estadio en el que se encuentre el paciente. Por último, una minoría elige hacer el seguimiento cada 2 años. Las guías Leishvet, publicadas por Solano-Gallego *et al.* (2017), indican el seguimiento más adecuado para un paciente seropositivo consistiría en una hematología y bioquímica completa junto con la realización de un perfil renal un mes post-tratamiento, para evaluar la eficacia del tratamiento y analíticas seriadas cada tres o seis meses para evaluar el estado del animal. Además, se recomienda una serología cada 6 meses para evaluar la respuesta inmune y medir los niveles de anticuerpos específicos contra el parásito, lo cual nos permite elegir de forma acertada los siguientes pasos terapéuticos más beneficiosos para el paciente. En general los veterinarios encuestados concuerdan bastante con estas recomendaciones, siendo una minoría la que realiza pruebas con mayor o menor frecuencia de lo habitual. El realizar analíticas o serologías mensualmente no aporta demasiada información, ya que los cambios se producen de manera progresiva en la enfermedad; por el contrario, espaciar el seguimiento cada dos años puede hacer que perdamos la oportunidad de hacer un diagnóstico precoz de recaídas (Solano-Gallego *et al.*, 2017).

5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la presente investigación pueden extraerse las siguientes conclusiones:

1. De acuerdo a las encuestas, el número de casos nuevos anuales y en seguimiento de leishmaniosis canina en cada uno de los centros no coincide con las zonas de riesgo previamente definidas por otros autores. Esto podría deberse a la epidemiología multifactorial de la enfermedad que dificulta la interpretación de los modelos; sin embargo, es necesario tener en cuenta que el número de casos declarado por los veterinarios puede variar en función del número de animales atendidos en el centro.

2. Para describir de forma acertada la situación epidemiológica de la leishmaniosis canina en Galicia se necesitan estudios que incluyan muestreos de los perros de la provincia que permitan verificar los modelos existentes, ya que definir el riesgo en función de variables exclusivamente relacionadas con el vector tiene muchas limitaciones debido a la gran variabilidad e inexactitud de factores implicados.

3. El análisis de las encuestas revela que existen diferencias en la distribución de la leishmaniosis canina en Galicia, siendo las zonas con más casos clínicos el sur de la provincia de Pontevedra, el suroeste de la provincia de Lugo y la provincia de Ourense.

4. La mayoría de los veterinarios encuestados considera que la leishmaniosis canina no presenta un patrón estacional; sin embargo, esta condición es difícilmente analizable desde un

punto de vista epidemiológico ya que está influida por múltiples variables dependientes del patógeno, vector, hospedador e incluso de los métodos diagnósticos empleados.

5. Los resultados de la encuesta muestran que los signos clínicos asociados a las fases crónicas o terminales de la enfermedad son más fácilmente reconocidos por los veterinarios que aquellos signos sistémicos asociados a fases tempranas, lo que podría dar lugar a un diagnóstico tardío de la enfermedad.

6. El fármaco más frecuentemente empleado por los veterinarios fue el alopurinol. Esto puede ser debido a que es un fármaco que puede ser empleado en todos los estadíos de la enfermedad proporcionando una reducción de la infectividad de los animales positivos por su efecto leishmanostático.

7. Casi la totalidad de los veterinarios encuestados indicó que la medida de prevención más efectiva frente a la leishmaniosis canina es el uso de antiparasitarios con piretroides, coincidiendo con las recomendaciones. Sin embargo, es posible que exista una confusión respecto a la importancia de las zonas con agua en la epidemiología de la enfermedad.

8. La preferencia de las técnicas serológicas para el diagnóstico de la leishmaniosis canina va en línea con la accesibilidad, coste y rapidez de estas herramientas, existiendo consenso en su utilidad a la hora de diagnosticar y estadiar animales positivos a *Leishmania* spp.

9. El análisis de las respuestas incluidas en la encuesta sugirió que la situación epidemiológica de la leishmaniosis en Galicia es muy heterogénea y evidenció la necesidad de una formación continuada para los profesionales de la salud en la que se incluyan conceptos relacionados con la epidemiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

6. BIBLIOGRAFÍA

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). (n.d.). *Información sobre medicamentos y productos sanitarios.* https://www.aemps.gob.es/

Alcover Amengual, M. M. (2015). *Os flebotomos de las islas de Mallorca y Menorca y su papel focalizador en la distribución de las leishmaniosis* [Tesis doctoral, Universitat de Barcelona]. Tesis Doctorals en Xarxa (TDX). http://hdl.handle.net/10803/286510

Alexander, B., y Maroli, M. (2018). Control methods for sand flies (Diptera: Psychodidae) and their impact on Leishmania transmission. *Acta Tropica, 176*, 98-105. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.022

Baneth, G., Koutinas, A. F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., & Brenner, J. (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: Part one. *Trends in Parasitology, 24*(7), 324-330. https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.004

Bates, P. A. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology, 37*(10), 1097-1106. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.010

Baxarias, M., Homedes, J., Mateu, C., Attipa, C., & Solano-Gallego, L. (2022). Use of preventive measures and serological screening tools for *Leishmania infantum* infection in dogs from Europe. *Parasites & Vectors, 15*(1), 134. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05251-5

Baxarias, M., Mateu, C., Miró, G., & Solano-Gallego, L. (2023). Serological survey of Leishmania infantum in apparently healthy dogs in different areas of Spain. *Veterinary Medicine and Science, 9*(5), 1980–1988. https://doi.org/10.1002/vms3.1172

Baxarias, M., Viñals, J., Álvarez-Fernández, A., Alcover, M. M., y Solano-Gallego, L. (2022). Detection of specific antibodies against *Leishmania infantum* in canine serum and oral transudate using an in-house ELISA. *Parasites & Vectors, 15*(1), 164. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05246-2

Bayer, S. L. (2023). *Seresto: Collar antiparasitario para perros y gatos* (Prospecto). Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

Bleda, M. M. (2021). *La leishmaniosis canina y felina: Revisión bibliográfica del tratamiento actual y de las nuevas terapias de la leishmaniosis canina*. [Tesis de doctoral, Universitat de Lleida].

Burguete-Mikeo, A., & Nguewa, P. (2022). Leishmaniasis en Navarra (1976-2018): actualización. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 45*(1), e0981. https://dx.doi.org/10.23938/assn.0981

Cavalera, M. A., Gernone, F., Uva, A., D'Ippolito, P., Roura, X., Paltrinieri, S., & Zatelli, A. (2021). Effect of domperidone (*Leisguard*®) on antibody titers, inflammatory markers, and creatinine in dogs with leishmaniosis and chronic kidney disease. *Parasites & Vectors, 14*(1), 525. https://doi.org/10.1186/s13071-021-05030-8

Campino, L., & Maia, C. (2018). The role of reservoirs: Canine leishmaniasis. In A. Ponte-Sucre & M. Padrón-Nieves (Eds.), *Drug resistance in Leishmania parasites* (pp. 59–83). Springer.

Cardoso, J. M. O., Brito, R. C. F., Mathias, F. A. S., Reis, L. E. S., Vieira, J. F. P., Ostolin, T. L. V. D. P., Andrade, H. M., Ramos, G. S., Frézard, F., Aguiar-Soares, R. D. O., Roatt, B. M., & Reis, A. B. (2022). Comparative evaluation of meglumine antimoniate encapsulated in a mixture of conventional and PEGylated liposomes and immunotherapy using an anti-canine IL-10 receptor-blocking monoclonal antibody on canine visceral leishmaniasis. *Molecular Immunology, 141*, 70–78. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2021.11.011

Castagnaro, M., Crotti, A., Fondati, A., Gradoni, L., Lubas, G., & Maroli, M. (2007). Canine leishmaniasis: guidelines for diagnosis, staging, therapy, monitoring and prevention. Part I: diagnostic approach and classification of the patient affected by leishmaniasis and management of dogs with proteinuria. *Veterinaria, 21*(3), 19–32. https://ddd.uab.cat/record/270421

Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V. M., & Coutinho, M. T. Z. (2012). Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: Unveiled similarities and differences. *Trends in Parasitology, 28*(12), 531–538. https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.09.005

Dantas-Torres, F., Miró, G., Baneth, G., Bourdeau, P., Breitschwerdt, E., Capelli, G., Cardoso, L., Day, M. J., Dobler, G., Ferrer, L., Irwin, P., Jongejan, F., Kempf, V. A. J., Kohn, B., Lappin, M., Little, S., Madder, M., Maggi, R., Maia, C., Marcondes, M., … Otranto, D. (2019). Canine leishmaniasis control in the context of One Health. *Emerging Infectious Diseases, 25*(12), 1–4. https://doi.org/10.3201/eid2512.190164

Díaz-Sáez, V., Corpas-López, V., Merino-Espinosa, G., Morillas-Mancilla, M. J., Abattouy, N., y Martín-Sánchez, J. (2021). Seasonal dynamics of phlebotomine sand flies and autochthonous transmission of Leishmania infantum in high-altitude ecosystems in southern Spain. *Acta Tropica, 213*(105749), 105749. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105749

Dougall, A., Shilton, C., Low Choy, J., Alexander, B., & Walton, S. (2009). Australian macropods. *Cambridge University Press*. https://doi.org/10.1017/S003118200900151X

Fernández-Bellon, H., Solano-Gallego, L., Rodríguez-Cortés, A., Ferrer, L., Gallego, M., Alberola, J., & Ramis, A. (2008). Little evidence of seasonal variation of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs in Spain. *Veterinary Parasitology*, *155*(1–2), 32–36. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.009

Gálvez Esteban, R., Gómez Molinero, M. Á., & López De Felipe Escudero, M. (2020). *Didactic approach to the study of sand flies and their control under One Health focus* [Aproximación didáctica al estudio de los flebótomos y su control bajo el enfoque de Una sola Salud]. *Revista Madrileña de Salud Pública, 4(8)*, 1–12.

Gálvez, R., Montoya, A., Cruz, I., Fernández, C., Martín, O., Checa, R., Chicharro, C., Migueláñez, S., Marino, V., & Miró, G. (2020). Latest trends in Leishmania infantum infection in dogs in Spain, Part I: Mapped seroprevalence and sand fly distributions. *Parasites & Vectors, 13*, 204. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04081-7

Ortuño, M., Risueño, J., Muñoz, C., Bernal, A., Goyena, E., García-Galán, A., & Ortiz, J. (2019). Prevalencia de Leishmaniosis en perros abandonados del ámbito periurbano de Murcia: Evaluación de diferentes técnicas de diagnóstico. *Anales de Veterinaria de Murcia, 33*, 37–47.

Gicheru, M. M., Mutiso, J. M., Macharia, J. C., & Ozwara, H. (2013). Immunology of leishmaniasis. Scientia Parasitologica, 14(2), 51-61.

González, M. M., Matheus Resende Oliveira, M., Manuel Benicio Oliveira Neto, M., Taynar Lima Bezerra, T., Weslania Souza Inacio da Silva, W., Wandklebson Silva da Paz, W., Igo Gonçalves dos Santos, I., Márcio Bezerra-Santos, M., & Victor Fernando Santana Lima, V. F. S. (2021). Cutaneous leishmaniasis in dogs and other carnivores. Parasites & Vectors, 14(1), 155.

González Laxe, F. (2021). Galicia: O seu territorio e a súa organización económica. Unha análise dos contrastes e da competitividade. Administración e Cidadanía, 16(1), 153-170. https://doi.org/10.36402/ac.v16i1.4717

Guillot, J., y Chabanne, L. (2019). Guía de enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos (N. Fernández Cubas, Trans.). Editorial Servet.

Killick-Kendrick, R. (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. Clinics in Dermatology, 17(3), 279-289. https://doi.org/10.1016/S0738-081X(99)00009-3

Koutinas, A. F., Carlotti, D. N., Koutinas, C., Papadogiannakis, E. I., Spanakos, G. K., & Saridomichelakis, M. N. (2010). Claw histopathology and parasitic load in natural cases of canine leishmaniosis associated with Leishmania infantum. Veterinary Dermatology, 21(5), 451-457. https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00863.x

Knowles, G. (2021). Terapias naturales para perros. La Esfera de los Libros.

Leishman, W. B. (1903). On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. National Medical Journal of India, 7(4), 196-200.

Maroli, M., Feliciangeli, M. D., Bichaud, L., Charrel, R. N., & Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. Medical and Veterinary Entomology, 27(2), 123-147. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x

Martínez, R., y López, J. (2019). Herramientas metodológicas en vigilancia epidemiológica: el papel de las encuestas. Epidemiología y Salud, 22(1), 45-59.

Mas, A., Hurtado-Morillas, C., Martínez-Rodrigo, A., Orden, J. A., de la Fuente, R., Domínguez-Bernal, G., y Carrión, J. (2023). A tailored approach to leishmaniases vaccination: Comparative evaluation of the efficacy and cross-protection capacity of DNA vs. peptide-based vaccines in a murine model. International Journal of Molecular Sciences, 24(15), 12334. https://doi.org/10.3390/ijms241512334

Medkour, H., Bitam, I., Laidoudi, Y., Lafri, I., Lounas, A., Hamidat, H. K., Mekroud, A., Varloud, M., Davoust, B., & Mediannikov, O. (2020). Potential of artesunate in the treatment of visceral leishmaniasis in dogs naturally infected by Leishmania infantum: Efficacy evidence from a randomized field trial. PLoS Neglected Tropical Diseases, 14(12), e0008947. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008947

Merino Goyenechea, L. J. (2024). Prevalencia de la leishmaniosis canina en la provincia de Zamora: Implicaciones sobre la población de lobos ibéricos (Canis lupus signatus) [Tesis doctoral, Universidad de León]. Universidad de León

Mettler, M., Grimm, F., Capelli, G., Camp, H., & Deplazes, P. (2005). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic Leishmania infections in dogs. Journal of Clinical Microbiology, 43, 5515–5519

Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., y Solano-Gallego, L. (2017). Novel areas for prevention and control of canine leishmaniosis. Trends in Parasitology, 33(9), 718-730.

Montoya-Alonso, J. A., Morchón García, R., Costa-Rodríguez, N., Matos, J., Falcón, Y., y Carretón, E. (2020). Current Distribution of Selected Vector-Borne Diseases in Dogs in Spain. Frontiers in Veterinary Science, 7, 1-11. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00144

Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., y Corpas-López, V. (2022). Canine leishmaniasis: Update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. Veterinary Sciences, 9(8), 387. https://doi.org/10.3390/vetsci9080387

Nicolini, P., Leger, N., y Depaquit, J. (2020). Detection of Leishmania infantum in Phlebotomus (Larroussius) species in Europe. Journal of Medical Entomology, 57(6), 1762–1767. https://doi.org/10.1093/jme/tjaa198

Oleaga, A., Zanet, S., Espí, A., de Macedo, M. R. P., Gortázar, C., y Ferroglio, E. (2018). Leishmania in wolves in northern Spain: A spreading zoonosis evidenced by wildlife sanitary surveillance. Veterinary parasitology, 255, 26-31.

Oliveira, M. R., Neto, M. B. O., Bezerra, T. L., Silva, W. S. I. da, Paz, W. S. da, Santos, I. G. dos, Bezerra-Santos, M., & Lima, V. F. S. (2021). Cutaneous leishmaniasis in dogs and other carnivores. Parasites & Vectors, 14(1), 155. https://doi.org/10.1186/s13071-021-04582-0

Olmeda, P., Díaz-Regañón, D., Villaescusa, A., Amusategui, I., García, A., Herrero, F., Tesouro, M. A., Rodríguez-Franco, F., García-Sancho, M., Martín-Fraile, D., & Sainz, A. (2024). Twenty-year evolution of Leishmania infantum infection in dogs in Valdeorras (Galicia, Northwestern Spain): implication of climatic factors and preventive measures. Parasites & Vectors, 17, 281. https://doi.org/10.1186/s13071-024-06357-8

Ordeix, L., Dalmau, A., Osso, M., Llull, J., Montserrat-Sangrà, S., & Solano-Gallego, L. (2017). Histological and parasitological distinctive findings in clinically-lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis. Parasites & vectors, 10(1), 121. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2051-6

Pennisi, M. G. (2015). Leishmaniosis of companion animals in Europe: An update. Veterinary Parasitology, 208(1–2), 35-47. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.017

Pérez Pérez, P., Rodríguez-Escolar, I., Carretón, E., Sánchez Agudo, J. Á., Lorenzo-Morales, J., Montoya-Alonso, J. A., & Morchón, R. (2021). Serological Survey of Canine Vector-Borne Infections in North-Center Spain. Frontiers in Veterinary Science, 8, 784331.

Pumahuanca, B. M. (2024). Técnicas de diagnóstico para la leishmaniasis: Una revisión sistemática y metaanálisis (Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Santa María). Repositorio UCSM. https://hdl.handle.net/20.500.12920/13655

Ravasi, D., Schnyder, M., Guidi, V., Haye, T., Parrondo Monton, D., & Flacio, E. (2024). Exploring Emerging Challenges: Survey on Phlebotomine Sand Flies and Leishmania infantum at the Northern Endemic Border in Europe. Pathogens, 13(12), 1074. https://doi.org/10.3390/pathogens13121074

Real Sociedad Canina de España. (s.f.). *Formación RSCE*. https://www.rsce.es

Ready, P. D. (2010). Leishmaniasis emergence in Europe. Euro Surveillance, 15(10), pii=19505. https://doi.org/10.2807/ese.15.10.19505-en

Rodrigues, A. C., Carloto, A. C. M., Gonçalves, M. D., Concato, V. M., Detoni, M. B., dos Santos, Y. M., Cruz, E. M. S., Madureira, M. B., Nunes, A. P., Pires, M. F. M. K., Santos, N. C., Marques, R. E. D. S., Bidoia, D. L., Figueiredo, F. B., & Pavanelli, W. R. (2023). Exploring the leishmanicidal potential of terpenoids: A comprehensive review on mechanisms of cell death. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 13, Article 1260448. https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1260448

Rodríguez-Escolar, I., Balmori-de la Puente, A., Collado-Cuadrado, M., Bravo-Barriga, D., Delacour-Estrella, S., Hernández-Lambraño, R. E., Sánchez Agudo, J. Á., y Morchón, R. (2024). Analysis of the current risk of Leishmania infantum transmission for domestic dogs in Spain and Portugal and its future projection in climate change scenarios. Frontiers in Veterinary Science, 11, 1399772. https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1399772

Romero Peñuela, M. H., y Sánchez Valencia, J. A. (2007). El diagnóstico de la leishmaniasis visceral canina (Leishmania infantum). Revista Veterinaria Y Zootecnia, 1(1), 51–59.

Solano Gallego, L. (2001). Leishmania infantum and dog: Immunological and epidemiological studies about infection and disease (Tesis doctoral). Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.

Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., & Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors, 4*, 86. https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86

Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... y Baneth, G. (2018). Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate

plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. Parasites y Vectors, 11, Article 373. https://doi.org/10.1186/s13071-018-3087-2

Solano Gallego, L. (2014). Leishmaniosis, una revisión actualizada. Servet Diseño y Comunicación. ISBN 9788494138911.

Solano-Gallego, L., y Fernández-Bellon, H. (2012). Canine leishmaniasis: A review of the epidemiology and control measures in the Mediterranean region. Viral Therapy, 10(2), 118–128. https://doi.org/10.1016/j.virther.2012.02.003

Solano-Gallego, L., y García, P. (2005). Leishmaniosis canina en España: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. Revista de Medicina Veterinaria, 22, 45-56.

Sun, M., Pratama, A. C., Qiu, H., Liu, Z., & He, F. (2024). Toward innovative veterinary nanoparticle vaccines. Animal Diseases, 4, 14. https://doi.org/10.1186/s44149-024-00119-w

Surveillance, prevention, and control of leishmaniases in the European Union and its neighbouring countries. (2022). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). https://doi.org/10.2900/823484

Vilas-Boas, D. F., Nakasone, E. K. N., Gonçalves, A. A. M., Lair, D. F., Oliveira, D. S. d., Pereira, D. F. S., Silva, G. G., Conrado, I. d. S. S., Resende, L. A., Zaldívar, M. F., Mariano, R. M. d. S., Dutra, W. O., Chávez-Fumagalli, M. A., Galdino, A. S., Silveira-Lemos, D., & Giunchetti, R. C. (2024). Global Distribution of Canine Visceral Leishmaniasis and the Role of the Dog in the Epidemiology of the Disease. Pathogens, 13(6), 455. https://doi.org/10.3390/pathogens13060455

Wilson, R., Bates, M. D., Dostalova, A., Jecna, L., Dillon, R. J., Volf, P., & Bates, P. A. (2010). Stage-specific adhesion of Leishmania promastigotes to sand fly midguts assessed using an improved comparative binding assay. PLoS Neglected Tropical Diseases, 4(9), e816. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000816

WHO. (2023). Leishmaniasis: Prevention and Control. World Health Organization. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis

Yimam, Y., & Mohebali, M. (2020). Effectiveness of insecticide-impregnated dog collars in reducing incidence rate of canine visceral leishmaniasis: A systematic review and meta-analysis. PLoS one, 15(9), e0238601.

Zoonoses Control Center (2021). Canine leishmaniasis: Clinical Management and Control Guidelines. Zoonoses Control Center Press.

ANEXO I

Enlace a la encuesta elaborada para el presente trabajo: encuesta

https://forms.office.com/Pages/AnalysisPage.aspx?AnalyzerToken=83lqgfY9LvmOboUtM6DkGJxtkW1tUDBq&id=LEUNj6S3ZEm4EIw5c3RHeyD4d54j62hAkMhQX0ebSvZUOExJVFNHUU5IMFc2T1lBV0I0SjBZQk5COC4u