



La leishmaniosis

La leishmaniosis es endémica donde se encuentran los vectores, los flebotomos (sandfly en inglés - moscas de la arena), y los mamíferos que actúan como reservorios de la enfermedad.

Los perros domésticos son un importante reservorio para algunas formas de leishmaniosis humana. La distribución de los perros infectados es difícil de calcular debido, por un lado, a la existencia de muchos casos de perros asintomáticos y, por otro, al largo período de incubación de la enfermedad que puede ser de hasta 7 años. En zonas endémicas se pueden alcanzar valores de hasta un 60-80% de perros infectados con leishmania dentro de la población canina, aunque es preciso tener en cuenta que menos del 10% desarrolla una enfermedad grave.

Suborden: Nematocera

Orden: Díptera (moscas de 2 alas)

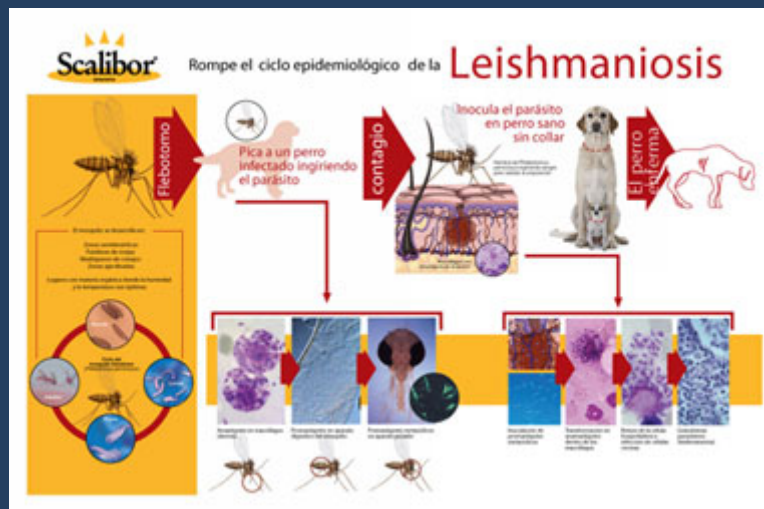
De las 800 subespecies de flebotomos 80 son probablemente probados vectores de la Leishmania. Estos vectores pertenecen al género *Phlebotomus* (Europa) y *Lutzomyia* (América).

Los flebotomos, conocidos vulgarmente como moscas de la arena (sandfly en inglés), son insectos nocturnos, por lo que su momento de mayor actividad se registra al atardecer. Entre otras características externas distintivas, destacan su cuerpo peludo y la posición de sus alas (en ángulo sobre el abdomen) cuando están en descanso. Esta postura cambia cuando se disponen a morder, momento en el que danzan en círculos alrededor de la parte del cuerpo del hospedador elegida para la picadura. Los flebotomos se alimentan de fuentes naturales de azúcar, pero sus hembras se sirven de la picadura para poder madurar sus huevos con la sangre del hospedador, de lo que se deduce que los machos no pican. La alimentación con sangre es precedida por la salivación en la piel del hospedador, ya que la saliva del flebotomo contiene anticoagulantes y vasodilatadores que facilitan la hemorragia. La elección del hospedador varía con las especies, algunos se alimentan en un determinado rango de hospedadores mientras que otros se alimentan de cualquier mamífero, pájaro o reptil.





Ciclo de vida del flebotomo



El ciclo completo tiene una duración aproximada de 6 semanas

- Después de su alimentación con sangre la ovoposición ocurre en 4-8 días.
- Los huevos eclosionan después de 7-10 días.
- Se dan 4 fases larvarias
- Fase de pupa
- Después de 10 días los flebotomos emergen de la pupa.

Ciclo vital de la leishmaniosis dentro del flebotomo

Muchas especies de flebotomos son vectores de ciertas especies de leishmania pero son incapaces de transmitir otras. En las que son incapaces de transmitir el parásito, la leishmania crece bien en los intestinos de la hembra mientras que la sangre está siendo digerida, pero son perdidos cuando el flebotomo defeca. Se ha sugerido que el anclaje al tracto digestivo medio del flebotomo está mediado por un lipofosfoglicano que varía en las diferentes especies de leishmania. Los vectores deben tener ligandos apropiados en las células del tracto medio digestivo para sostener el anclaje del parásito.

Los amastigotes son ingeridos con la sangre y rápidamente cambian a una forma móvil y alargada, los promastigotes. Éstos se multiplican rápidamente por fisión binaria.

Inicialmente la sangre ingerida es envuelta en una membrana peritrófica. Las enzimas producidas por la leishmania destruyen esta membrana y los parásitos escapan al lumen del tracto digestivo. Allí, se adhieren a la pared. A medida que la leishmania se multiplica, se mueve cranealmente a la válvula estomodeal de la parte torácica del tracto digestivo.





A través del desarrollo se producen promastigotes metacíclicos. Esta forma es capaz de infectar al hospedador vertebrado. Son diferentes morfológicamente de las formas de multiplicación y sobre todo son capaces de resistir la digestión por los macrófagos. Las formas metacíclicas invaden las partes orales y se ven en las glándulas salivales de la mosca. Existen varias opiniones sobre la relevancia del parásito en estos lugares en relación con la transmisión. Parece ser que la leishmania es transmitida por la regurgitación de los promastigotes metacíclicos de la parte torácica del tracto dentro de la piel durante el acto de la alimentación.

Patogénesis de la leishmaniosis canina.

Bajo condiciones naturales, el flebotomo transmite un número bajo de promastigotes que son capaces de inducir la enfermedad. El curso de la enfermedad es dependiente del tipo de respuesta inmune del propio perro. La mayoría de los parásitos son destruidos por los factores del complemento, los promastigotes supervivientes se adhieren a las células de los macrófagos/monocitos por determinados receptores de adherencia. Después, los promastigotes son fagocitados y contenidos dentro del fagolisosoma y allí entonces se transforman en amastigotes no móviles. El parásito está protegido de la degradación dentro del fagolisosoma. Después de la inoculación dentro de la piel, se inicia una respuesta inflamatoria local. En animales susceptibles la infección se extiende en pocas horas a los nódulos linfáticos, médula ósea y bazo. En los animales resistentes, los parásitos permanecen localizados en la piel.

Los perros que desarrollan un cuadro grave de leishmaniosis, han desarrollado una respuesta humoral (tipo Th2) contra el parásito. Durante la respuesta tipo Th2, los linfocitos T liberan citokinas, Interleukina-4, Interleukina-5, Interleukina-10 y transforman el factor de crecimiento B, lo cual previene a los macrófagos de destruir la leishmania. En estos animales existe un incremento en el número de linfocitos B y un descenso en el número de linfocitos T. El incremento en las células B produce cantidades excesivas de inmunoglobulinas no protectoras. Se forman complejos antígeno-anticuerpo (inmunocomplejos) que en la circulación producen los típicos síntomas de la enfermedad por inmunocomplejos.

La resistencia a la enfermedad está asociada con el desarrollo de una fuerte respuesta parásito-celular inmunespecífica (respuesta Th1). En este tipo de respuesta, los linfocitos T activan a los macrófagos mediante la liberación de citokinas, interferon gamma y la interleukina-2. Estos perros frecuentemente presentan nódulos cutáneos, "chancro de inoculación", en el sitio de infección.

En general, la leishmaniosis clínica canina es una enfermedad lenta y progresiva. La inmunosupresión que provoca puede dar lugar a infecciones concomitantes.





Signos clínicos de la leishmaniosis

Los signos clínicos de la leishmaniosis varían ampliamente. Los principales son:

- Lesiones en piel
- Pérdida de peso o pérdida de apetito
- Linfadenopatía local o generalizada
- Lesiones oculares
- Epistaxis
- Cojeras
- Anemia
- Fallo renal
- Diarrea

Signos clínicos de la leishmaniosis	Ciaramella et al 1997 (n=150)	Koutinas et al 1999 (n=158)
Linfadenopatía	88,7%	65.2%
Lesiones en piel	56%	81%
Pérdida de peso	32%	25.3%
Uñas anormales	24%	30.5%
Esplenomegalia	53.3%	9.5%
Azotemia	16%	38.1%
Lesiones oculares	16%	24.1%
Anorexia	18%	16.5%
Epistaxis	10%	3.8%
Diarrea	3%	3.8%

Los signos presentan una evolución lenta pero progresiva, con una pequeña o muy leve respuesta a los antibióticos o glucocorticoides.

Las lesiones cutáneas son las más comúnmente observadas en los casos clínicos. Dichas lesiones son usualmente simétricas, crónicas y no pruríticas. Comienzan por la cabeza y luego se extienden al resto del cuerpo. La ulceración crónica puede desarrollarse en la cabeza y extremidades. La pérdida de peso y de apetito se va observando a medida que la leishmaniosis progresa. Existe frecuentemente atrofia de los músculos faciales. Las lesiones oculares son variables. La blefaritis está asociada con dermatitis faciales en muchos casos. El fallo renal se produce como resultado de la glomerulonefritis asociada a los inmunocomplejos. La epistaxis está asociada con la inflamación y ulceración de la mucosa nasal. Un pequeño porcentaje de la diarrea del intestino grueso es causada por una colitis ulcerativa. En casos más avanzados, la disminución de la actividad física es evidente.





Diagnóstico de la leishmaniosis

Diagnóstico clínico

La leishmania no puede ser diagnosticada solamente mediante la observación de los signos clínicos por las siguientes razones:

- Los perros examinados podrían estar infectados pero aparentemente sanos. Estos animales podrían estar incubando la leishmaniosis (casos de prepatencia), permanecer asintomáticos de por vida o podrían curarse espontáneamente.
- Cuando los signos clínicos están presentes no son específicos y pueden ser compatibles o enmascarar otras enfermedades.

Además se han descrito formas atípicas de leishmaniosis canina. Algunos casos presentan dermatitis localizada, colitis crónica y desórdenes de los sistemas cardiovasculares, respiratorios y músculo-esquelético. Esto complica el diagnóstico clínico aún más.

Test de laboratorio

El diagnóstico definitivo de la leishmaniosis es difícil. Los signos clínicos son variables, como hemos descrito anteriormente; la histopatología es similar a otras enfermedades inmunomediadas y no existe un test diagnóstico 100% específico disponible. En el diagnóstico final se deben tener en cuenta varios métodos diagnósticos diferentes.

Los métodos diagnósticos usados para la leishmaniosis son:

1. Parasitológico: examen microscópico y cultivo.
2. Serológico: detección de anticuerpos.
3. Molecular: amplificación del ADN del parásito (PCR).
4. Xenodiagnosis.

Método parasitológico

Consiste en la demostración de los amastigotes con tinción Giemsa en médula ósea o en aspirado de los nódulos linfáticos. El test es rápido y barato, tiene una alta especificidad pero poca sensibilidad. Los promastigotes pueden ser detectados en cultivos de nódulos linfáticos y aspirado de la médula ósea. La sensibilidad del cultivo depende de:

- Tipo de medio usado (el medio agar-sangre bifásico es el más eficiente).
- El número de viales de cultivo usados (unas pocas gotas de aspirado distribuido entre varios viales nos da los mejores resultados).





El número de muestras tomadas (los múltiples aspirados de varios nódulos infartados incrementan la sensibilidad).

Podemos usar el diagnóstico histopatológico si la leishmania está presente.

Método serológico

Debido a que el perro enfermo clínicamente desarrolla altos niveles de anticuerpos circulantes, los test serológicos son una herramienta importante para el diagnóstico.

Test serológicos usados:

- Test de fijación del complemento
- Test de hemoaglutinación indirecta
- Test de aglutinación en látex
- Test de aglutinación directa
- Contador inmunoelectroforesis
- Inmunofluorescencia indirecta
- Ensayo inmunsorbente de la unión-enzima ó ELISA
- Inmunoensayo oro coloidal
- Western blot

Estas técnicas se diferencian en el tipo de antígeno de leishmania utilizado y en su facilidad de uso, algunos son sencillos de usar mientras que otros requieren un buen equipamiento de laboratorio. En general IFAT (considerado el "gold standard"), ELISA, test de aglutinación directa y Western blot dan los resultados más satisfactorios. Cuando evaluamos los resultados serológicos debemos tener en cuenta que:

- La detección de anticuerpos positivos puede no significar que el animal tenga la enfermedad y constituir sólo un indicativo del contacto con el parásito. Este es el caso de los perros curados clínicamente que podrían tener todavía parásitos circulantes meses después de la enfermedad.
- Los test serológicos no son 100% sensibles. Los animales en fases tempranas de la enfermedad pueden ser seronegativos.
- Los métodos serológicos no son adecuados para la evaluación de la curación clínica y del funcionamiento del tratamiento en los perros.

Kits rápidos

Los kits comerciales para la detección rápida de anticuerpos se usan mucho. La mayoría de estos kits consisten en ensayos inmunocromatográficos que emplean anticuerpos monoclonales IgG anticáninas marcados con oro coloidal, y el antígeno de la leishmania de diferentes fuentes. Son fáciles de usar y dan un resultado en 10 minutos. La eficacia





diagnóstica de estos kits ha sido evaluada y se encontró que la especificidad fue razonable en 4/5 kits (en uno se encontró una especificidad menor del 61%), la sensibilidad varió desde 35% al 66%, y la concordancia entre el test fue incluso menor.

Métodos moleculares

Polymerase Chain Reaction (PCR) ó "Reacción en cadena de la Polimerasa" Esta técnica es muy útil para el diagnóstico de la Leishmaniosis, el seguimiento de los pacientes durante y después del tratamiento y la identificación de la especie de leishmania.

La detección del ADN de la leishmania es posible en la médula ósea y los aspirados de los nódulos linfáticos al igual que en sangre (la sensibilidad podría ser menor con muestras de sangre). La sensibilidad y especificidad de este método es alta. La sensibilidad es tan alta que los parásitos pueden ser detectados en pacientes que han estado clínicamente sanos durante varios años. Para la realización de estas pruebas es necesario tanto un buen equipamiento de laboratorio así como el empleo de procedimientos avanzados.

Xenodiagnosis

Consiste en la detección y aislamiento de un patógeno usando su vector artrópodo natural. No se propone como un método de rutina ya que requiere colonias de flebotomos preparadas y disponibles. Esta técnica puede ser usada para resolver preguntas epidemiológicas importantes sobre el papel del estatus clínico y el tratamiento con fármacos en la transmisión de *L. infantum*

Tratamiento de la leishmaniosis.

El tratamiento de la leishmaniasis canina es difícil. Los fármacos usados son caros y todos requieren regímenes de varias dosis, lo que supone numerosas molestias tanto para los dueños como para el paciente. Existen frecuentemente recaídas de la enfermedad clínica después del tratamiento y muchos de los fármacos tienen efectos secundarios adversos. No hay cura parasitológica para la enfermedad, sólo podemos resolver los síntomas clínicos. En los últimos años los periodos de tratamiento se han visto prolongados, esto puede ser debido a la resistencia desarrollada por el parásito frente a los fármacos usados comúnmente, por lo que para prevenir la progresión de dichas resistencias deberían emplearse distintos fármacos tanto en perros como en humanos.





Los fármacos usados para el tratamiento de la leishmaniosis son:

1. Antimoniales Pentavalentes
2. Anfotericina B
3. Pentamidina
4. Aminosidina
5. Miltefosina

Alopurinol

Pirazolpirimidina que inhibe la xantina oxidasa.

- Usado para el tratamiento de la gota en humanos y contra la formación de cálculos de urato en perros
- Metabolizado por leishmania para producir un análogo de la purina que la incorpora defectuosamente dentro del ARN.
- Barato
- Administración oral 10-20 mg/kg dos veces al día indefinidamente o al menos durante las épocas del año en que se puede transmitir la enfermedad.
- Los efectos secundarios en perros son raros (formación de urolitos de xantina, deterioro de la función hepática).
- Mejora clínica, pero no cura parasitológica
- Usado también en combinación con el antimonio de meglumina

Pentamidina

- Diamidina aromática
- Inyección intramuscular dolorosa (necrosis local)
- Inyectado durante 2-3 meses
- Efectos secundarios: hipotensión, taquicardia y vómitos

Aminosidina

- Aminoglicósido producido por *Streptomyces rimosus*
- Las dosis clínicas efectivas en perros están asociadas con: sordera (ototoxicidad), ceguera, nefrotoxicidad, muerte. Hasta el momento los fármacos más usados en Europa son el antimonio de meglumina con o sin alopurinol. Después de la resolución de los síntomas clínicos el alopurinol es usado como terapia de mantenimiento frecuentemente de por vida, lo que previene recaídas si bien no elimina el parásito definitivamente.





Antimoniales Pentavalentes

Antimoniato de Meglumina

- Inhibe selectivamente las enzimas de la leishmania que son activas en la glicólisis y el metabolismo de los ácidos grasos.
- Inyectable
- 75 mg/kg 2 veces al día durante 3-4 semanas SC, IM o IV
- Efectos adversos como: fibrosis muscular y formación de abscesos (IM), nefrotoxicidad, problemas gastrointestinales, dolor muscular y rigidez articular.
- Relativamente caro

Anfotericina B

- Un macrólido poliénico producido por el actinomiceto *Streptomyces*
- Antifúngico con actividad contra algunos protozoos.
- Actúa uniendo ergosterol a la membrana celular y alterando su permeabilidad.
- Altamente nefrotóxico en perros: vasoconstricción renal con reducción de la filtración glomerular renal, efecto tubular directo.
- La posología en humana es de 0.5 mg/kg IV o SC 2-3 veces a la semana y es relativamente cara

Miltefosina

- Esa-decil-fosfocolina. Es el último fármaco que ha empezado a emplearse.
- Actividad leishmanicida.
- Actúa alterando el metabolismo de los fosfolípidos del parásito.
- La posología es de 2 mg/kg/día VO durante 28 días
- No puede usarse en perras gestantes lactantes y/o destinadas a la reproducción.





Prevención de la leishmaniosis

Profilaxis

Existen diversos métodos de control de la leishmaniosis, algunos de ellos muy controvertidos a causa de su alto coste medioambiental:

1. La completa destrucción del hábitat del flebotomo. Es la única forma permanente para el control del vector. Esto ha sido usado con éxito pero con un alto coste en ciertas áreas endémicas en la Unión Soviética.
2. Rociadas o nebulizaciones con insecticidas en las casas afectadas. Esto es costoso y se debe hacer por períodos indefinidos. Uso de mosquiteras o cortinas impregnadas con insecticida.
3. En las áreas donde los perros son el reservorio de la enfermedad, la eliminación de todos los perros o la caza selectiva de los perros seropositivos podría reducir la incidencia de la enfermedad pero son métodos inaceptables para el control desde un punto de vista ético y no soluciona el problema.

Una forma más barata y eficaz de control, donde los perros se saben reservorios, es prevenir la picadura de los flebotomos, y así la transmisión de la enfermedad, colocando a los perros collares impregnados con deltametrina (Scalibor®, Intervet Schering-Plough Animal Health). Scalibor® actúa de forma prolongada como un almacén que libera deltametrina en la capa lipídica de la piel durante 6 meses. Éste método no requiere un equipamiento caro o personal entrenado para su uso. Si lo combinamos con un buen programa de sanidad pública, los resultados son muy buenos.

También se pueden emplear pipetas (Advantix) durante los meses de primavera y verano. Resultados tan satisfactorios como el empleo de los collares. Se ponen sobre la piel cada 28 días. Al igual que el collar también protegen frente a garrapatas y pulgas.

