



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Estudio de seroprevalencia de *Leishmania infantum* en hurones procedentes de zona endémica

*Leishmania infantum* seroprevalence study in ferrets from endemic areas

Autor/es

Raquel Turón Rodrigo

Director/es

Sergio Villanueva-Saz

Facultad de Veterinaria

2021

---

## ÍNDICE

---

1. Resumen .....	3
2. Abstract .....	3-4
3. Introducción .....	4-18
<b>3.1.</b> Definición e importancia .....	4-5
<b>3.2.</b> Etiología, ciclo y transmisión vectorial de <i>Leishmania infantum</i> .....	5-7
<b>3.3.</b> Vías de transmisión no vectorial .....	8-9
<b>3.4.</b> Prevalencia de leishmaniosis canina y felina en España .....	9-12
<b>3.4.1.</b> Prevalencia de leishmaniosis canina (CanL) .....	9-11
<b>3.4.2.</b> Prevalencia de leishmaniosis felina (FeL) .....	11-12
<b>3.5.</b> Otros hospedadores de <i>L. infantum</i> .....	12-14
<b>3.6.</b> <i>L. infantum</i> en hurones domésticos .....	14-18
4. Justificación y objetivos .....	18
5. Metodología .....	18-19
<b>5.1.</b> Área de estudio .....	18
<b>5.2.</b> Muestras obtenidas y método diagnóstico .....	18-19
6. Resultados .....	19-21
7. Discusión .....	22-24
8. Conclusiones .....	25
<b>8.1.</b> Conclusions .....	25-26
9. Valoración personal .....	26
10. Bibliografía .....	27-35

## 1. RESUMEN

---

La leishmaniosis es una enfermedad zoonótica de transmisión vectorial producida por *Leishmania infantum*, protozoo parásito con un ciclo de vida digénico, en el que intervienen un hospedador vertebrado y uno invertebrado.

En España, así como en la mayoría de los países de la cuenca mediterránea esta enfermedad es endémica y el responsable de la transmisión es un pequeño díptero del género *Phlebotomus*, principalmente *P. perniciosus* y *P. ariasi*, estos insectos se reproducen en zonas con materia orgánica, altas humedades y temperaturas suaves, su actividad aumenta al crepúsculo y durante los meses de marzo a octubre.

En este trabajo se lleva a cabo el primer estudio de seroprevalencia de la infección por *L. infantum* en un grupo de hurones domésticos (*Mustela putorius furo*) (n=165) procedentes de la Comunidad Valenciana, zona endémica de la infección, mediante una técnica ELISA tipo *in-house*, estableciendo el punto de corte en 0.137 unidades de densidad óptica (OD).

El resultado obtenido fue un 53,93% (89/165) de seroprevalencia de *L. infantum* en esta especie. Las variables analizadas fueron el género, con un 56,81% (50/88) de seroprevalencia en machos y un 50,64% (39/77) en hembras, y el hábitat con unos resultados de 66,67% (6/9) de seroprevalencia en hurones con hábitat exterior, 51,28% (40/78) en los de interior, 55,76% (29/52) en los que tienen un hábitat mixto (interior/exterior) y un 53,84% (14/26) en los animales de los cuales se desconocía su hábitat. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ) en ninguna variable a excepción de los hurones que habitan en un ambiente exterior ( $P<0.042$ ).

Estos datos indican la necesidad de llevar a cabo más estudios sobre la epidemiología de esta enfermedad en esta especie.

## 2. ABSTRACT

---

Leishmaniosis is a zoonotic vector-borne disease produced by *L. infantum*, a protozoan parasite with a digenic life cycle, involving a vertebrate and an invertebrate host.

In Spain, as well as in most of the countries of the Mediterranean basin, this disease is endemic and the responsible for the transmission is a small dipteran of the genus *Phlebotomus*, mainly

*P. Perniciosus* and *P. Ariasi*, these insects reproduce in areas with matter organic, high humidity and mild temperatures, its activity increases at twilight and during the months of March to October.

In this study, the first seroprevalence study of infection by *L. infantum* is carried out in a group of domestic ferrets (*Mustela putorius furo*) (n = 165) from the Valencian Community, an endemic area of the infection, using a technique in-house ELISA, establishing the cut-off point at 0.137 optical density units (OD).

The result obtained was 53.93% (89/165) of seroprevalence. The variables analysed were gender, with 56.81% (50/88) seroprevalence in males and 50.64% (39/77) in females, and habitat with results of 66.67% (6/9) seroprevalence in ferrets with outdoor habitat, 51.28% (40/78) in indoor ones, 55.76% (29/52) in those with a mixed habitat (indoor/outdoor) and 53.84 % (14/26) in animals whose habitat was unknown. No statistically significant differences ( $p > 0.05$ ) were found in any variable except for ferrets living in an outdoor environment ( $p < 0.042$ ).

These data indicate the need for further studies on the epidemiology of this disease in this species.

### 3. INTRODUCCIÓN

---

#### 3.1 DEFINICIÓN E IMPORTANCIA

La leishmaniosis es una enfermedad de transmisión vectorial producida por distintas especies del género *Leishmania*, fue descrita por primera vez 1903, en bazos de humanos en la India, por dos médicos británicos, Leishman y Donovan, de los cuales posteriormente adquiriría el nombre de *Leishmania donovani* (Herwaldt, 1999) Esta enfermedad es de gran importancia a nivel mundial, ya que se trata de una de las principales zoonosis parasitarias junto con la malaria y la filariasis (Solano y Villanueva-Saz, 2013)

Según datos publicados en el año 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021), esta enfermedad es endémica en 98 países y su aparición está estrechamente relacionada con la pobreza y los cambios climáticos y ambientales, el número de nuevos casos anuales oscila entre los 700.000 y un millón, aunque sólo unos pocos llegan a desarrollar la enfermedad.

En España la leishmaniasis humana, es una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) desde 1995, aunque durante varios años solo era controlada por algunas Comunidades Autónomas y

no fue hasta 2015 cuando paso a ser de obligada notificación en todo el territorio nacional, siendo la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) la encargada del estudio de los casos (Fernández, *et al.* 2019).

En los países de la cuenca mediterránea, entre los que se encuentra España, esta zoonosis es endémica y la especie implicada es *Leishmania infantum*, se considera que el principal reservorio de este parásito es el perro, aunque cada vez se conoce más el papel que desempeñan como reservorios otros mamíferos como los cánidos salvajes, gatos, liebres, conejos (Portús *et al.*, 2013) y más recientemente los hurones (Giner *et al.*, 2020a), lo que hace que sea una enfermedad de gran interés en el campo de la medicina en general.

### 3.2 ETIOLOGÍA, CICLO Y TRANSMISIÓN VECTORIAL DE LEISHMANIA INFANTUM

El agente etiológico de la leishmaniosis es un protozoo parásito del género *Leishmania* (clase *Kinetoplastea*, familia *Trypanosomatidae*), como en la mayoría de los parásitos protozoarios el ciclo biológico de *L. infantum* es digénico, parte de su ciclo se desarrolla en un hospedador vertebrado, un mamífero, y parte en uno invertebrado, un artrópodo perteneciente al orden *Diptera* (familia *Psychodidae*, subfamilia *Phlebotominae*) y el género *Phlebotomus*, el cual es el responsable de la transmisión (Cardoso y Solano, 2013).

En la cuenca mediterránea los principales flebótomos responsables de la infección son *Phlebotomus ariasi* y *Phlebotomus perniciosus*, siendo este último el más abundante, estos insectos se caracterizan por su pequeño tamaño, tres milímetros aproximadamente, su cuerpo cubierto de pelo, sus alas con un ángulo de 45º cuando se encuentran en reposo y por sus largas patas. La hembra es hematófaga y la responsable de la transmisión del parásito, ya que es necesario que se alimente de sangre para poder llevar a cabo la puesta de huevos, sin embargo, los machos se alimentan únicamente de azúcares de insectos y plantas, por lo que su papel en la epidemiología de la enfermedad es menor que en el caso de la hembra (Killick-Kendrick, 1999; Maroli *et al.*, 2012).

El ciclo del flebótomo es holometábolo o de metamorfosis completa, tras la fase de huevo, tiene cuatro fases larvarias, el estadio de pupa y posteriormente alcanza el estado adulto. En el desarrollo de este insecto intervienen varios factores entre los que se encuentran la temperatura, la presencia de materia orgánica, que sirva de alimento para las fases larvarias y la humedad del ambiente, por lo que lo más frecuente es localizarlos en zonas con presencia de perros, basura o jardines, debido a esto su transmisión se da principalmente en zonas rurales y

periurbanas ya que estos insectos realizan vuelos cortos y se alimentan en zonas próximas a sus lugares de reproducción (Killick-Kendrick, 1999; Gálvez *et al.*, 2018).

En un estudio llevado a cabo en 2005 sobre la actividad del vector, se observó que su actividad aumentaba, al anochecer, entre las 20:00 y las 23:00 horas, con una temperatura entre 18,7°C y 21,6°C y una humedad ambiental entre 77,4% y 86,3% (Lucientes *et al.*, 2005), por lo que el riesgo de transmisión de leishmaniosis aumenta notablemente cuando se cumplen estas circunstancias. Por debajo de 17°C los flebotomos disminuyen su actividad y su fase larvaria entra en diapausa, ya que su eclosión depende fundamentalmente de que las condiciones meteorológicas sean las adecuadas (Martín, 2014; Gálvez *et al.*, 2018).

En España, al igual que en el resto de las regiones mediterráneas, se considera que el periodo de mayor actividad de los flebotomos se encuentra entre los meses de marzo y octubre, siendo el mes de mayor riesgo julio (Tarallo *et al.*, 2010), pero en regiones del sur de la península este periodo puede alargarse hasta diciembre, siempre y cuando no se den condiciones meteorológicas adversas como lluvia o fuerte viento (Killick-Kendrick, 1999).

La forma infectante de *Leishmania* es el promastigote metacíclico, estos son alargados, con un largo flagelo que les facilita el movimiento y un tamaño entre 15-30 µm de largo y 2-3 µm de ancho y se localizan en el aparato digestivo de la hembra de flebotomo (Cardoso y Solano, 2013).

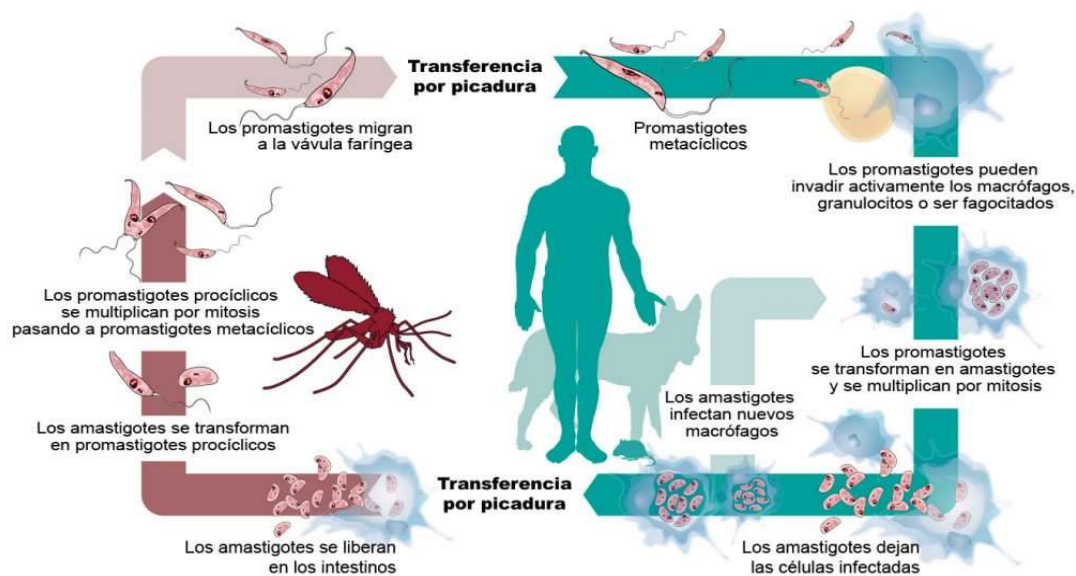
La hembra para alimentarse introduce sus piezas bucales en forma de sierra en la piel del hospedador vertebrado, produciéndole una herida penetrante por la que fluirá la sangre que succionará (Bates, 2007), pero previamente debe regurgitar hasta su probóscide los promastigotes presentes en su aparato digestivo y que se encuentran bloqueando el canal alimentario, estos promastigotes serán inoculados en la dermis del hospedador vertebrado junto con la saliva del flebotomo (Martín, 2014), la cual contiene sustancias farmacológicas que favorecen el desarrollo de la infección, como: anticoagulantes, vasodilatadores, agentes antiplaquetarios, inmunomoduladores y antiinflamatorios (Andrade *et al.*, 2007).

Los hábitos de alimentación de las hembras de flebotomo (*Phlebotomus* spp.) varían según la especie, estas pueden ser endofágicas o exofágicas, dependiendo de si se alimentan en espacios cerrados o al aire libre y exófilas o endófilas según sus hábitos de descanso tras la alimentación, las hembras de *P. perniciosus*, son exofágicas y exófilas (Gálvez *et al.*, 2018) y se sienten atraídas por la emisión de CO<sub>2</sub>, la temperatura y la humedad del hospedador al que atacaran de forma silenciosa, principalmente en áreas con poca densidad de pelo, como la cabeza, zona nasal, pabellones auriculares, abdomen, áreas inguinales y perianales (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Cuando el parásito entra en contacto con el hospedador vertebrado, se produce una reacción inflamatoria que desencadena la migración de células del sistema inmunitario hasta la zona, principalmente macrófagos y neutrófilos, que captan los promastigotes inoculados por el flebótomo con el fin de fagocitarlos, para ello crean una vacuola parasitófora que libera sustancias leishmanicidas, siendo la más importante el óxido nítrico (NO). Hay ocasiones en las que esta respuesta inmunitaria no es efectiva y el parásito comienza a multiplicarse por fisión binaria como amastigote, forma parasitaria en la que *Leishmania* se encuentra en el hospedador vertebrado, estos son redondos u ovalados, con un diámetro de 2-6  $\mu\text{m}$  y un pequeño flagelo, cuando el macrófago no es capaz de albergar más amastigotes en su interior se produce su lisis quedando estos amastigotes libres, los cuales son captados por nuevos macrófagos (Figura 1), lo que les permitirá continuar con la multiplicación y diseminación a través de las células del sistema inmune (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Liu y Uzonna, 2012).

Estas células pueden permanecer en la dermis, produciendo la forma cutánea de la enfermedad con lesiones piogranulomatosas y/o dérmicas o migrar a órganos del sistema linfohematopoyético, como ganglios linfáticos, bazo, hígado y médula ósea y producir la forma visceral, en el caso de la leishmaniosis canina cursa con ambas formas y en el gato es más frecuente la forma cutánea (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Martín, 2014).

Los amastigotes libres en la circulación periférica y los que se encuentran en los macrófagos presentes en la piel, son los que ingerirá la hembra de flebótomo junto con la sangre cuando se alimenta de un hospedador vertebrado infectado.



**Figura 1:** Ciclo de *Leishmania infantum*.

Imagen extraída de: <https://fatroiberica.es/wp-content/uploads/2017/07/Antishmania-diptico-1>

### 3.3. VÍAS DE TRANSMISIÓN NO VECTORIAL

Aunque la principal forma de transmisión de la leishmaniosis es a través de vectores del género *Phlebotomus* spp., se han descrito otras vías de transmisión a través de las cuales se ha producido la infección sin que estos interfieran.

Estas formas de transmisión son:

- Parenteral, a través de transfusiones de sangre de perros infectados. En un estudio llevado a cabo por De Freitas *et al.* (2006), se inoculó a hámsteres sangre de perros positivos a *L. infantum* y se evaluó su respuesta, comprobando que seis meses después de esta infección experimental algunos de estos animales desarrollaron la infección y la sintomatología clínica de leishmaniosis.

En otro estudio que se realizó en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona, se tomaron muestras de sangre de 92 perros aparentemente sanos y aptos para ser considerados donantes, todos ellos fueron negativos a *L. infantum* en serología, en cambio 18 de estas muestras, el 19,6%, dieron un resultado positivo a la infección por el parásito en PCR, lo que indica que antes de realizar una transfusión se debería verificar mediante varias técnicas que el animal donante es negativo, especialmente en zonas donde la enfermedad es endémica ya que en muchas ocasiones pueden no presentar sintomatología y ser portadores de una infección subclínica (Tabar *et al.*, 2008).

- Vertical, congénita o transplacentaria, hay varios estudios que describen esta transmisión tanto de forma experimental como de forma natural, pero actualmente se desconoce su relevancia ya que en zonas endémicas es difícil de detectar debido a la alta probabilidad de contacto con el vector, incluso en fases de edad tempranas (Ben Slimane *et al.*, 2014; Masucci *et al.*, 2003; Rosypal *et al.*, 2005).

- Venérea, se han detectado amastigotes en el tracto genital y semen de machos infectados (Diniz *et al.*, 2005), y se ha demostrado la infección por parte de estos a perras sanas tras el apareamiento, aunque al igual que en el caso anterior se desconoce la relevancia de esta vía de transmisión (Silva *et al.*, 2009).

- Por contacto directo entre perros a través de mordeduras o heridas (Schantz *et al.*, 2005), debido a la presencia del parásito en la sangre y en la piel.

Estas formas de transmisión pueden explicar los brotes de la enfermedad en zonas no endémicas en las cuales el vector no está presente, y en las que la infección se ha podido producir por la



presencia de mamíferos, especialmente perros, originarios de zonas endémicas e infectados con el parásito (Maia y Cardoso, 2015; Pennisi, 2015), el conocimiento de esta posibilidad en la transmisión de la enfermedad hace especialmente relevante el control en las poblaciones caninas y el estudio de nuevos posibles reservorios.

Además, existe la sospecha de que se podría dar la transmisión por otro tipo de vectores como, pulgas (Coutinho y Linardi, 2007; Ferreira, M. G. P. A. *et al.*, 2009), garrapatas (Dantas-Torres, 2011; Trotta *et al.*, 2012) y mosquitos culicoides (Slama *et al.*, 2014), pero actualmente no se tienen suficientes estudios sobre ello.

### 3.4. PREVALENCIA DE LEISHMANIOSIS CANINA Y FELINA EN ESPAÑA

#### 3.4.1. PREVALENCIA DE LEISHMANIOSIS CANINA (CANL)

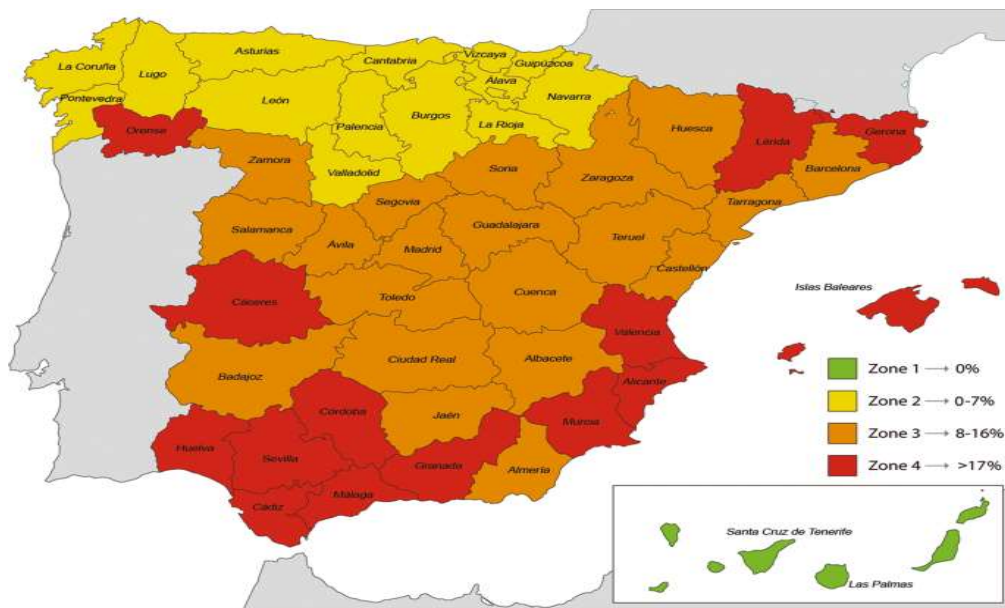
La leishmaniosis canina se describió por primera vez en 1908, por Nicolle y Comte, en un perro de Túnez (Solano y Villanueva-Saz, 2013).

El perro está considerado como el principal reservorio doméstico de *L. infantum*, la infección en esta especie es endémica en alrededor de 70 países (Solano-Gallego *et al.*, 2011), y está especialmente presente en los países de la cuenca mediterránea, donde se estima que hasta 2,5 millones de perros están infectados (Moreno y Alvar, 2002).

En España inicialmente se creía que su presencia estaba limitada a las zonas que limitan con el mar Mediterráneo, pero en la actualidad se conoce que esto no es así y que el parásito está presente en perros de toda la Península Ibérica e Islas Baleares (Montoya-Alonso *et al.*, 2020), incluso en zonas consideradas de baja endemicidad como los Pirineos (Ballart *et al.*, 2012) o regiones de Galicia (Gálvez *et al.*, 2020) (Figura 2), con una prevalencia entre 3,7% y 46,6% (Montoya-Alonso *et al.*, 2020).

En un estudio llevado a cabo entre septiembre de 2018 y febrero de 2020, realizado con el objetivo de actualizar datos sobre la prevalencia de distintas enfermedades transmitidas por vectores, se analizaron 4.643 muestras sanguíneas de perros procedentes de las 17 Comunidades Autónomas de España, mediante el test comercial Uranotest Quattro®, el resultado obtenido con un 97% de sensibilidad, fueron unos mayores índices de positividad en zonas del este y sur de España, entre las que se encontraban Murcia con un 24,66% de las muestras analizadas positivas, Islas Baleares con un 21,11%, Andalucía con un 18,03% y Comunidad Valenciana con un 17,11% de sus muestras positivas (Montoya-Alonso *et al.*, 2020).

En otro estudio llevado a cabo con 1739 muestras analizadas mediante ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y test rápidos en la propia clínica y realizado en fechas similares al anterior, los datos obtenidos por comunidades variaron ligeramente, siendo el % de positividad en Ourense, un 35,6% de las muestras analizadas positivas (Gálvez *et al.*, 2020), el dato más llamativo a destacar, ya que se trata de una región de la geografía española considerada de baja endemicidad, lo que demuestra la expansión del parásito a zonas en las que tradicionalmente no se localizaba. Esto se puede deber a la falta de prevención y control por parte de los propietarios en estas regiones por falta de conocimiento del riesgo y de la presencia del parásito en su entorno (Montoya-Alonso *et al.*, 2020).



**Figura 2:** Mapa de distribución de *L. infantum* en España (Gálvez *et al.*, 2020)

*Leyenda:* Zona 1 (no endémica, de bajo riesgo); Zona 2 (hipoendémica, riesgo intermedio); Zona 3 (endémica, riesgo intermedio-alto); y Zona 4 (hiperendémica, de alto riesgo).

En ninguno de los estudios se encontraron diferencias significativas por género, pero si por edad en el estudio llevado a cabo por Montoya-Alonso *et al.* (2020), se observó una mayor seroprevalencia en perros adultos, mientras que, en el llevado a cabo por Gálvez *et al.* (2020) fue al contrario, la seroprevalencia fue significativamente más alta en perros menores de un año y relacionan este hecho con la falta de desarrollo del sistema inmune del animal lo que los hace más vulnerables a la infección en los dos primeros años de vida. Pese a ello, en ambos estudios el resultado de seroprevalencia obtenido a nivel nacional fue muy similar, un 10,36% de las muestras analizadas (481/4643) en el estudio de Montoya-Alonso *et al.* (2020) fueron positivas a *L. infantum*, frente a un 10,1% (176/1739) en el estudio llevado a cabo por Gálvez *et al.* (2020).

Llevar a cabo estudios de este tipo es fundamental ya que la leishmaniosis puede permanecer de forma asintomática durante largos periodos de tiempo lo que contribuye a su propagación (Montoya-Alonso *et al.*, 2020).

#### 3.4.2. PREVALENCIA DE LEISHMANIOSIS FELINA (FEL)

La leishmaniosis felina cada vez cobra más importancia en la epidemiología de la enfermedad, a esto ha contribuido el avance en el estudio de la medicina felina y el desarrollo de métodos diagnósticos más sensibles (Pennisi *et al.* 2015).

El gato, dentro de la misma zona geográfica, se ve afectado por la misma especie de *Leishmania* que el perro (*L. infantum*) y se estima que la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en poblaciones de gatos de zonas endémicas se encuentra entre el 0,7% y el 30% (Mesa-Sánchez *et al.*, 2020), aunque según Pennisi *et al.* (2015) si hablamos de prevalencia total, podría alcanzar hasta un 68,5%. En España, esta prevalencia se encuentra entre el 1,3% en la zona centro de la península y el 28% en la zona sur (Miró *et al.*, 2014).

En un estudio llevado a cabo recientemente con gatos aparentemente sanos y de vida libre en la ciudad de Zaragoza, zona considerada endémica por contar con una prevalencia de entre 8% y 16% de leishmaniosis canina (Gálvez *et al.*, 2020), se analizaron 179 muestras mediante distintas técnicas diagnósticas, Western Blot (WB), ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia directa e indirecta (IFAT) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), observando que la prevalencia de esta enfermedad en estos animales era del 15,6% (Alcover *et al.*, 2021), dato muy similar al 15,4% obtenido en un estudio llevado a cabo en otra zona endémica de la enfermedad, la Isla de Ibiza (Sherry *et al.*, 2011). Estos datos son menores que los obtenidos en perros que residen en la misma zona, pero eso no descarta que el gato pueda estar jugando un papel importante en la transmisión de la enfermedad (Pennisi *et al.* 2015).

El sistema inmune del gato es más eficaz que el del perro haciendo frente a la infección por *Leishmania*, por lo que sólo una pequeña proporción de estos llegan a desarrollar la enfermedad y los que lo hacen habitualmente desarrollan la forma cutánea, la cual en ocasiones se resuelve espontáneamente (Montoya *et al.*, 2018), además, al igual que en el perro las infecciones subclínicas son las más frecuentes, lo que favorece que la infección pueda pasar desapercibida o confundiendo con otras enfermedades más comunes en esta especie (Martín *et al.*, 2007).

En gatos con otras infecciones concomitantes en las que su sistema inmune se vea comprometido, como las infecciones víricas por los retrovirus de la leucemia (FeLV) y la

inmunodeficiencia felina (FiV), el coronavirus felino (FCoV) o la coinfección con el parásito *Toxoplasma gondii*, se puede favorecer la infección y posterior multiplicación del parásito (Martín *et al.*, 2007; Pennisi *et al.*, 2015), pero no se ha demostrado una correlación estadísticamente significativa excepto en el caso de los retrovirus (Sherry *et al.*, 2011).

Estos datos sugieren la importancia de establecer medidas preventivas frente a este parásito en los gatos y contribuir así a disminuir la prevalencia de la leishmaniosis, la dificultad de esto radica en que la mayoría de los piretroides tópicos en los que se ha comprobado su efectividad en el perro, resultan tóxicos para el gato (Pennisi *et al.*, 2015).

### 3.5. OTROS HOSPEDADORES DE *L. INFANTUM*

Aunque siempre se ha pensado en el perro como el principal reservorio doméstico en la infección por *L. infantum* en el hombre, se ha visto que otros animales también pueden estar implicados en la transmisión de esta enfermedad, como ocurrió en el brote de leishmaniasis humana que tuvo lugar entre 2009 y 2012 en Madrid, donde la incidencia pasó de 1,12 a 22,2 casos por cada 100.000 habitantes (Miró *et al.*, 2014), y en el cual se descartó la implicación de los perros, ya que el sistema de vigilancia no detectó un aumento significativo en la prevalencia de la infección en estos, por lo que se tomaron muestras con el objetivo de detectar el parásito en gatos, conejos, ratas y liebres, ya que eran especies también presentes en el entorno, y se analizaron mediante PCR, detectando la presencia de ADN de *L. infantum* en un 30% de las liebres (*Lepus europaeus*) analizadas, además se confirmó la transmisión del parásito de las liebres a los flebótomos mediante técnicas de xenodiagnóstico (Carrillo *et al.*, 2013), por lo que en este caso el reservorio responsable de este brote fueron las liebres y no los perros como se sospechó en un primer momento.

El aumento de la población de conejos y liebres y que sus madrigueras sean lugares habituales de reproducción de los flebótomos, pudo favorecer que este brote se desencadenara (Carrillo *et al.*, 2013).

Otra de las especies en las que se ha detectado una alta prevalencia de la infección por el parásito son las ratas (*Rattus norvegicus*), en un estudio llevado a cabo por universidades españolas, se analizó mediante PCR la presencia de ADN de *L. infantum* en estos animales localizados en el alcantarillado de Barcelona, zona endémica de leishmaniosis canina, detectándose la presencia del parásito en un 33,3% de las ratas analizadas, esto podría tener una gran implicación en la epidemiología de la enfermedad dada la abundancia de estos animales en todas las ciudades (Galán-Puchades *et al.*, 2019).

Tanto en el caso de las liebres responsables del brote de leishmaniasis en Madrid, como en el de las ratas del alcantarillado de Barcelona, se cumplen los criterios necesarios para poder considerarse reservorios del parásito que estableció la OMS en el informe sobre el Control de las Leishmaniasis en 2010, ya que la presencia del parásito en varios individuos no los clasifica directamente como tal, estos criterios son (OMS, 2010):

- El hospedador debe ser lo suficientemente longevo y abundante para poder proporcionar una fuente de alimento a los flebótomos.
- Es necesario que exista un contacto estrecho entre el hospedador y los flebótomos, como ocurre por ejemplo en las madrigueras.
- La prevalencia de animales infectados puede llegar a superar el 20%.
- La infección en el hospedador debe ser de larga duración y no demasiado patógena, para permitir que los parásitos sobrevivan y se pueda dar la transmisión.
- Se deben encontrar parásitos en piel y sangre en número suficiente que les permita pasar al flebótomo.

En algunos países del sur de Europa, los zorros (*Vulpes vulpes*) y los lobos (*Canis lupus*) son considerados los reservorios caninos salvajes, ya que la prevalencia de la infección en estos es similar a la de los perros de la misma zona (Portús *et al.*, 2002; Cardoso *et al.*, 2021), también se ha demostrado la infección por este parásito en otras especies salvajes como erizos (*Erinaceus europaeus*), ratones (*Mus spretus*), ardillas (*Sciurus vulgaris*) (Alcover *et al.* 2020) y en algunas especies de mustélidos salvajes como en las nutrias (*Lutra lutra*). La infección en esta especie se describió por primera vez en Asturias en el año 2018 (Oleaga *et al.*, 2018), y posteriormente en el año 2019 en Murcia, en este último caso se trataba de una nutria alojada en cautividad la cual mostro epistaxis bilateral, anorexia, apatía y pérdida de peso, síntomas compatibles con la infección por *Leishmania*, los cuales tras el tratamiento con alopurinol mejoraron (Cantos-Barreda *et al.*, 2020), pero también se ha confirmado la infección en turones (*Mustela putorius*), visón europeo (*Mustela lutreola*), tejones (*Meles meles*), garduñas (*Martes foina*) y martas (*Martes martes*) en el norte (Del Río *et al.*, 2014) y sureste (Risueño *et al.*, 2018) de la Península Ibérica.

Estos hallazgos también podrían establecer que existe una relación entre el ciclo doméstico de *Leishmania*, en el que está implicado el perro y un ciclo en el que los animales salvajes son los que actúan como reservorio (Risueño *et al.*, 2018), aunque en la mayoría de las ocasiones estos animales se consideran hospedadores menores o incidentales, los cuales en algunas ocasiones

pueden participar en el mantenimiento del parásito en el entorno, pero su implicación en la epidemiología de la enfermedad está todavía por demostrar (OMS, 2010).

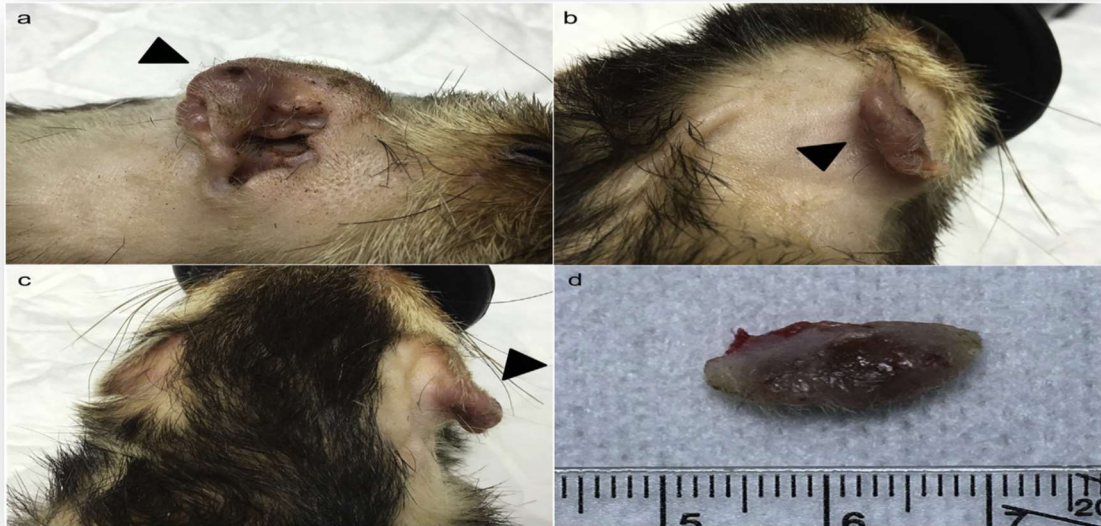
Aunque se conocen casos de infección por *Leishmania* en animales de ganado doméstico, especialmente en bóvidos y équidos en algunos lugares de Europa (Cardoso *et al.*, 2021), el papel que pueden desempeñar en la epidemiología de la enfermedad estas especies hoy en día es desconocido (Portús *et al.*, 2002).

A lo largo de los últimos años son varios los estudios que se han realizado en distintas especies tanto salvajes como domésticas, aunque hoy en día tener un dato claro de la infección por este parásito en estos animales es complicado, ya que las técnicas serológicas llevadas a cabo en la mayoría de ocasiones no tienen la sensibilidad necesaria ni los umbrales establecidos adecuados, además hay que tener en cuenta que la respuesta inmune que se desencadena frente a la infección puede no ser la misma en todas las especies (Portús *et al.*, 2002; Del Río *et al.*, 2014; Risueño *et al.*, 2018).

### 3.6. *L. INFANTUM* EN HURONES DOMÉSTICOS

Recientemente se ha publicado que los hurones (*Mustela putorius furo*) son susceptibles a la infección natural por *L. infantum*, tras confirmar la infección por este parásito en una hurona procedente de la Comunidad Valenciana, zona hiperendémica de leishmaniosis canina. Esta hurona no convivía con perros, pero sí con otros hurones y tenía acceso al exterior (Giner *et al.*, 2020a).

A diferencia de los casos confirmados de *Leishmania* en mustélidos salvajes, de los cuales ninguno de ellos, a excepción de la nutria criada en cautividad, mostro sintomatología ni signos *post-mortem* compatibles con leishmaniosis clínica (Del Río *et al.*, 2014), esta hurona presentaba una lesión de 5mm de diámetro con presencia de eritema y edema, pero no dolorosa en el pabellón auricular derecho (Figura 3), la cual se acompañaba de zonas costrosas y de necrosis. Al realizarle una citología, se observó una dermatitis piogranulomatosa, lesión compatible con la zona de inoculación del parásito, a continuación, se tomó una biopsia en la que se visualizaron macrófagos y células gigantes multinucleadas con abundantes estructuras en su interior de forma ovalada, núcleo excéntrico, citoplasma pálido y un tamaño entre 3  $\mu\text{m}$  y 4  $\mu\text{m}$ , compatibles con *Leishmania* spp. o *Histoplasma* spp., el análisis mediante inmunohistoquímica confirmó la presencia de amastigotes de *Leishmania* spp., posteriormente se confirmó el diagnóstico mediante PCR, ELISA, WB y se realizó un cultivo mediante el cual se aisló y se identificó como *L. infantum* (Giner *et al.*, 2020a).



**Figura 3:** Lesión cutánea por *L. infantum* en un hurón doméstico (Giner. et al., 2020a)

A nivel sistémico las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALKP) y gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) se encontraban elevadas, estas enzimas en casos de leishmaniosis canina se pueden ver elevadas, pero en este caso no se pudo saber si se debía a la infección por *Leishmania* o no, ya que para ello se debería haber llevado a cabo una biopsia hepática, además, también presentaba hipergammaglobulinemia, pero este es un signo común en distintas infecciones que afectan al hurón (Giner *et al.*, 2020a).

Esta hurona estaba en tratamiento con ciclosporina y prednisolona, fármacos inmunosupresores, lo que pudo favorecer que desarrollase los signos clínicos de leishmaniosis (Giner *et al.*, 2020a) y que las enzimas hepáticas se encontraran elevadas.

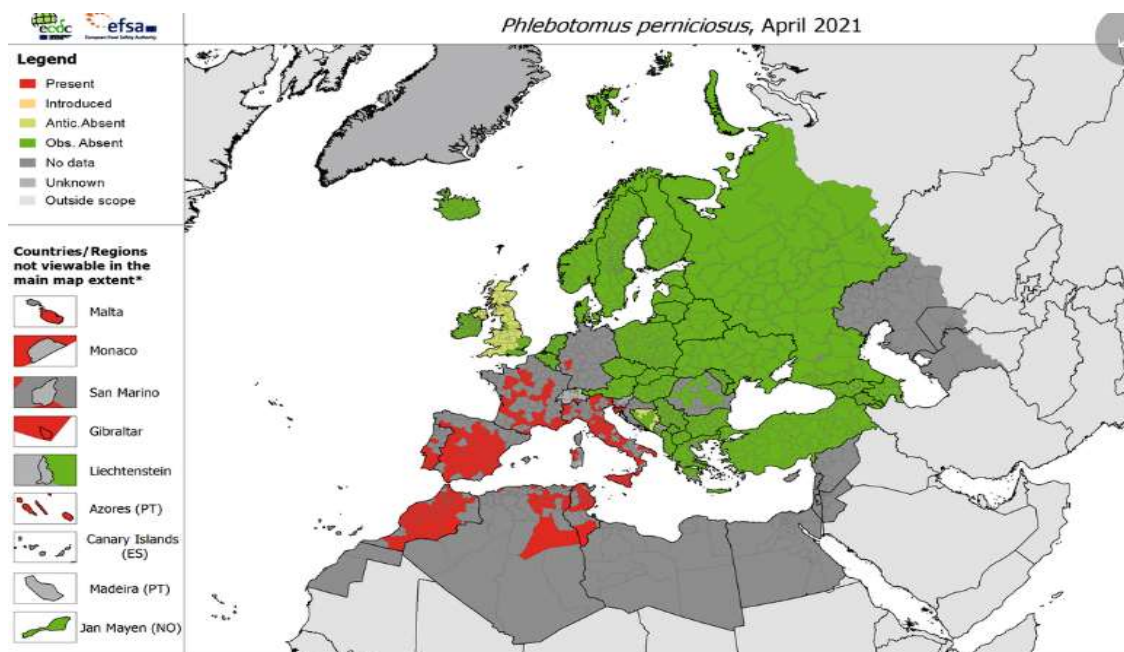
Este caso no es único, ya que recientemente se ha expuesto en un congreso el caso de otra hembra de hurón, procedente de la misma zona que la anterior, que también presentaba una lesión piogranulomatosa, en esta ocasión a nivel del mentón, junto con un aumento del tamaño de los linfonodos mandibulares, aumento de proteínas totales e hiperglobulinemia. Tras estos hallazgos se le realizó un ELISA específico de hurón con el fin de detectar anticuerpos anti-*Leishmania* obteniendo un resultado positivo y confirmando así el diagnóstico de leishmaniosis clínica (Giner *et al.*, 2021).

En la actualidad, no se dispone de información de la epidemiología de la infección por *L. infantum* en los hurones. Sin embargo, recientes evidencias científicas han demostrado que es posible detectar una variación estacional en los anticuerpos anti-*Leishmania* detectados en

hurones domésticos después de la exposición natural durante el período de transmisión del flebotomo en una zona mediterránea endémica (Villanueva-Saz *et al.*, 2021), situación muy similar a lo que ocurre en la especie canina (Cavalera *et al.*, 2021).

Según el mapa de distribución de *P. perniciosus* (Figura 4) publicado por el Centro Europeo de Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), este flebotomo tiene una alta presencia en la Península Ibérica.

En el estudio llevado a cabo por Alcover *et al.* (2013), describen que existe una correlación positiva entre la presencia de gatos y la densidad de flebotomos, sería interesante conocer si en el caso de los hurones sucede lo mismo, además el comportamiento oportunista respecto a la alimentación de estos insectos también ha sido demostrado en algunos estudios (De Colmenares *et al.*, 1995; Branco *et al.*, 2013), lo que puede estar indicando que existen otros reservorios de *L. infantum* entre los que se podría encontrar el hurón.



**Figura 4:** Mapa de distribución de *P. perniciosus* (ECDC, 2021)

Según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), en un informe emitido en 2015, en el que aborda el incremento en los hogares españoles de los nuevos animales de compañía (NAC), los hurones fueron la especie con un mayor aumento de población entre los años 2012 y 2015 como se muestra en la Tabla 1. Actualmente no hay disponible un censo real con el que poder conocer la población actual de estos animales en España, ya que la implantación de un microchip y el posterior registro en las bases de datos autonómicas a diferencia de en los perros en muchas comunidades es opcional, pero los datos expuestos en



este informe, corroboran que su presencia como mascota es cada vez más común en los hogares españoles, y se espera que esto siga aumentando, ya que, en EEUU, por ejemplo, los hurones son la tercera mascota más frecuente en los hogares, sólo por detrás de perros y gatos. A esto hay que añadir su aptitud para la caza de conejos, práctica permitida en algunos lugares de España, por lo que es de presuponer que en estas zonas la población de hurones será todavía mayor.

	2012 Número de hogares con mascota	2012 Nº medio de animales por hogar	2012 Censo Total	2015 Número de hogares con mascota	2015 Nº medio de animales por hogar	2015 Censo Total	Variación en absoluto 2012-2015	Variación porcentual 2012-2015
Peces tropicales	180.220	12,2	2.198.684	269.161	10,2	2.745.446	546.762	24,87%
Peces de agua fría	294.905	5,9	1.739.942	484.490	4,2	2.049.394	309.452	17,79%
Reptiles	81.918	1,4	114.685	269.161	1,5	398.359	283.674	247,35%
Otros pájaros	720.880	3,8	2.739.344	1.094.589	2,8	3.053.905	314.561	11,48%
Canarios	720.880	3,3	2.378.904	1.220.198	2,9	3.501.968	1.123.064	47,21%
Tortugas acuáticas	557.044	1,7	946.974	520.379	1,4	738.938	-208.036	-21,97%
Conejos	196.604	2,4	471.849	448.602	2,2	973.467	501.618	106,31%
Otros roedores	32.767	1,3	42.597	53.832	1,8	97.975	55.378	130,00%
<b>Hurones</b>	16.384	1,0	16.384	107.665	1,3	143.194	126.810	774,01%
Loros	163.836	1,2	196.604	233.273	1,8	417.559	220.955	112,39%
Hámsteres	229.371	1,9	435.805	215.329	1,2	256.242	-179.563	-41,20%
<b>TOTAL</b>	<b>3.194.809</b>	<b>3,5</b>	<b>11.281.771</b>	<b>4.916.680</b>	<b>2,9</b>	<b>14.376.445</b>	<b>3.094.674</b>	<b>27,43%</b>

**Tabla 1:** Variación del censo de NAC entre el año 2012 y 2015 (MAPA, 2015)

La exposición a la infección por *L. infantum*, se puede dar tanto en hurones que residen en el interior de domicilios como mascotas, como en hurones destinados para la caza, pero son estos últimos posiblemente los más susceptibles a ello, debido a esta práctica en la cual se adentran en madrigueras, lugares de reproducción de los flebótomos, además, en este tipo de hurones, habitualmente son varios los animales que conviven en un pequeño espacio, lo que puede favorecer la transmisión.

En Europa, la cepa (zimodema) de *L. infantum* más frecuente en el perro es la MON-1, sin embargo, en el hombre además de esta se han aislado otras cepas de esta especie, las cuales no se han encontrado en el perro, esto sugiere que pueden existir otros reservorios además del perro (Aït-Oudhia *et al.*, 2011).

Debido a esto, se considera que es de interés llevar a cabo estudios que amplíen el conocimiento actual sobre enfermedades que puedan afectar a esta especie, para posteriormente poder

establecer medidas de prevención y control, especialmente en el caso de zoonosis como es la leishmaniosis, en la cual el conocimiento de un posible nuevo reservorio podría ser de importancia en el control de la prevalencia de esta.

## 4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

Actualmente no se conocen los niveles de seroprevalencia de *L. infantum* en hurones domésticos (*Mustela putorius furo*), por lo que el objetivo de este trabajo es realizar un estudio seroepidemiológico de *L. infantum* en estos animales, a partir de muestras obtenidas en la Comunidad Valenciana, zona con una elevada endemicidad en leishmaniosis canina y región donde se diagnosticó por primera vez la leishmaniosis en hurones.

## 5. METODOLOGÍA

---

### 5.1. ÁREA DE ESTUDIO:

La provincia de Valencia está situada al este de la Península Ibérica y en el centro de la Comunidad Valenciana de la cual la ciudad de Valencia es su capital. Tiene una extensión de 10.763km<sup>2</sup>, y limita con el mar Mediterráneo al este, con las provincias de Castellón y Teruel al norte, con Cuenca y Albacete al oeste y con Alicante al sur.

Su clima es mediterráneo, el cual se caracteriza por unas temperaturas suaves, inviernos ligeramente lluviosos y veranos secos. Su temperatura media anual es de 18,4°C, la influencia del mar hace que sus variaciones térmicas sean pequeñas y que su humedad relativa sea alta, alrededor del 65% y con pocas variaciones (AEMET, 2021).

### 5.2. MUESTRAS OBTENIDAS Y MÉTODO DIAGNÓSTICO:

Se incluyeron en el estudio 313 muestras de suero, procedentes de 165 hurones, 88 machos y 77 hembras, con edades comprendidas entre los 5 meses y los 8 años, almacenadas en el Laboratorio de Inmunopatología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

Estas muestras se obtuvieron entre mayo de 2019 y enero de 2021, en un centro clínico veterinario de la provincia de Valencia, mediante venipuntura de la vena cava craneal, método más utilizado para esta práctica, por la posibilidad de obtener volúmenes mayores de sangre y

la posición caudal del corazón en esta especie, de cada hurón participante en el estudio se obtuvieron varias muestras sanguíneas, las cuales se sometieron a centrifugación para la obtención de suero y posteriormente se guardaron en congelación hasta la realización de los análisis.

La detección de anticuerpos anti-*Leishmania infantum* se realizó mediante un ELISA de tipo *in-house* (Giner *et al.*, 2020a).

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un programa estadístico (EpiCalc 2000), con un intervalo de confianza del 95% (C.I.), con el fin de detectar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las variables analizadas (género y hábitat).

## 6. RESULTADOS

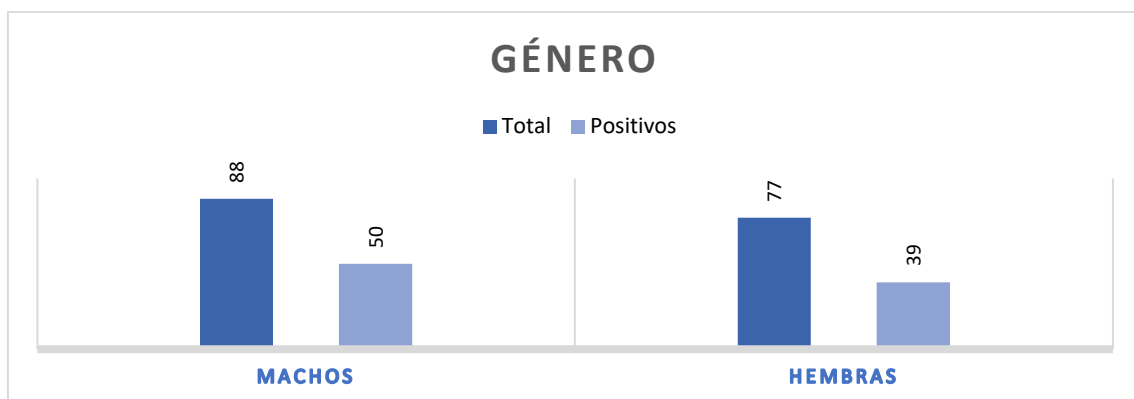
---

Se incluyeron en el estudio 313 muestras de 165 hurones, de los cuales 88 fueron machos y 77 hembras.

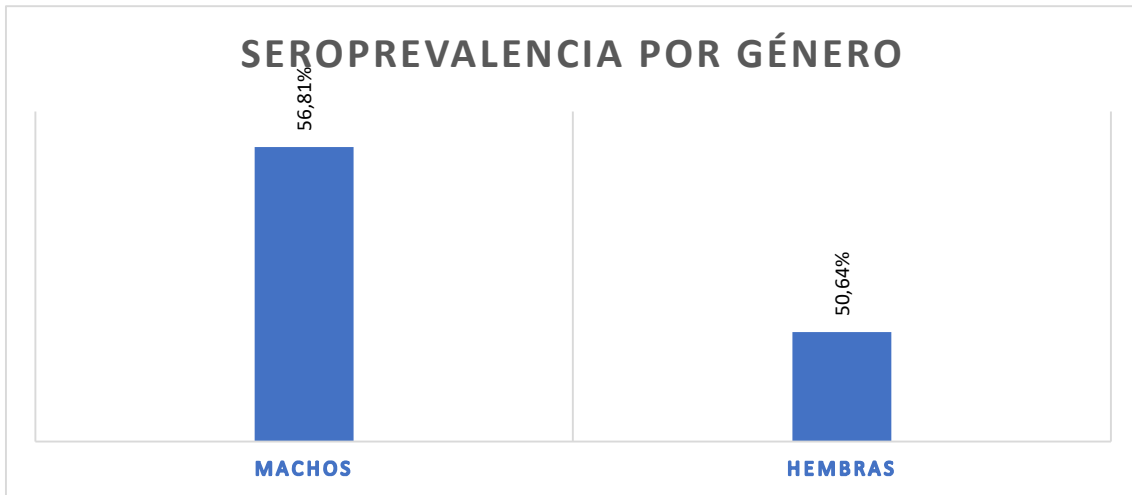
De estas 313 muestras, 157 fueron positivas y 156 negativas, incluyendo en algunos casos muestras seriadas de un mismo animal.

La seroprevalencia se obtuvo a partir de 165 hurones, de los cuales 89 muestras fueron positivas, obteniendo un resultado de un 53,93%.

Las muestras se dividieron por género, obteniendo que el 56,17% (50/89) de las muestras positivas correspondían a machos y el 43,82% (39/89) a hembras, esto da unos valores de seroprevalencia de 56,81% (50/88) en el caso de los machos y 50,64% (39/77) en las hembras (Gráficas 1, 2 y Tabla 2).



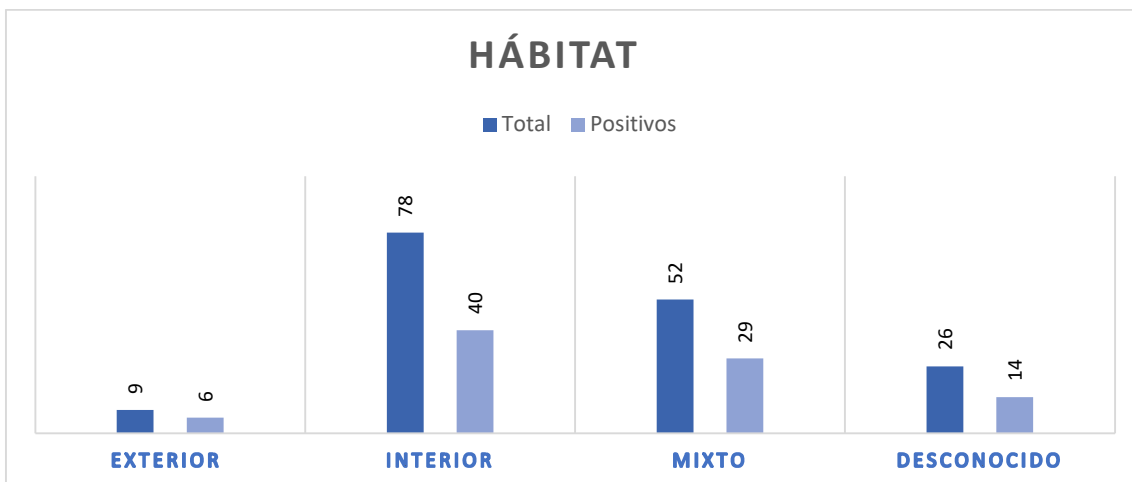
**Gráfica 1:** Muestras positivas a *L. infantum* desglosadas por género



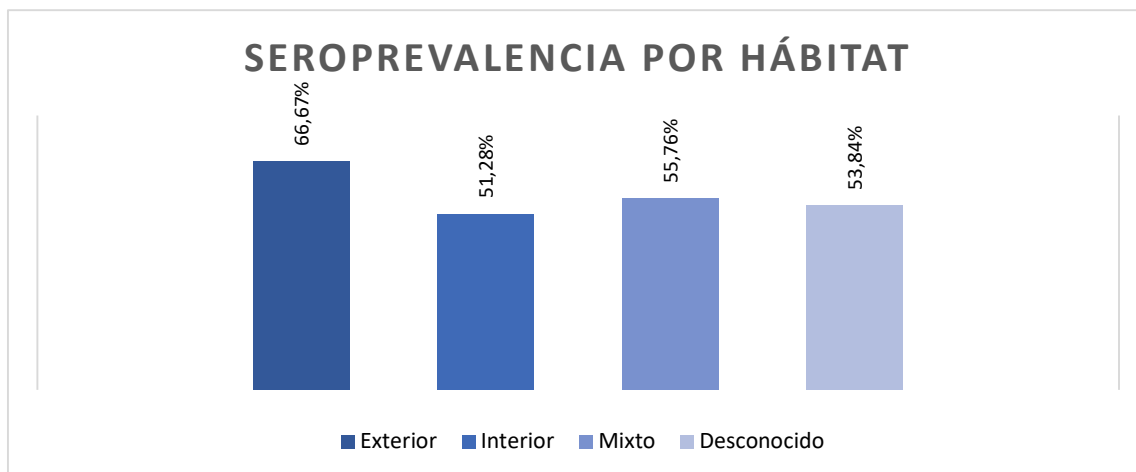
**Gráfica 2:** Seroprevalencia de *L. infantum* por género

La otra variable analizada fue el hábitat en el que viven estos hurones, de las 165 muestras obtenidas de distintos hurones, 9 de estos residen en el exterior, 78 en el interior, 52 en un ambiente mixto (exterior/interior) y de 26 de ellos no se conoce este dato.

El 6,74% (6/89) de las muestras positivas corresponden a los hurones de exterior, con una seroprevalencia del 66,67% (6/9), el 44,94% (40/89), corresponden a los de hábitat de interior, con una seroprevalencia del 51,28% (40/78), el 32,5% (29/89) de las muestras positivas corresponden a los hurones de hábitat mixto, con una seroprevalencia del 55,76% (29/52) y finalmente el 15,73% (14/89) de las 89 muestras positivas son de animales de los que no se conoce su hábitat, esto corresponde a una seroprevalencia del 53,84% (14/26), este dato es muy similar al obtenido sobre la seroprevalencia general (53,93%), esto se puede deber a que en este grupo están englobados animales de varios hábitats y sexos (Gráficas 3, 4 y Tabla 2).



**Gráfica 3:** Muestras positivas de *L. infantum* desglosadas por hábitat



**Gráfica 4:** Seroprevalencia de *L. infantum* por hábitat

No se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre las variables analizadas (género y hábitat), a excepción de los hurones pertenecientes al hábitat de exterior, en los cuales sí que se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,042$ ) de este hábitat con un mayor porcentaje de seropositividad a *L. infantum*.

Variable	Muestras (n)	Positivos/Total (%)	Seroprevalencia
<b>GÉNERO</b>	165	89/165	<b>53,93%</b>
Machos	88	50/89 (56,17)	56,81%
Hembras	77	39/89 (43,82)	50,64%
<b>HÁBITAT</b>			
Exterior	9	6/89 (6,74)	66,67%
Interior	78	40/89 (44,94)	51,28%
Mixto	52	29/89 (32,5)	55,76%
Desconocido	26	14/89 (15,73%)	53,84%
<b>MUESTRAS TOTALES ANALIZADAS</b>	<b>313</b>	<b>157/313</b>	<b>50,15%</b>

**Tabla 2:** Seroprevalencia de *Leishmania infantum* en hurones de la Comunidad Valenciana

## 7. DISCUSIÓN

---

Este es el primer estudio llevado a cabo sobre la seroprevalencia por *L. infantum* en hurones domésticos, hoy en día el papel que puede desempeñar esta especie en la epidemiología y mantenimiento de esta enfermedad es desconocido.

El valor de seroprevalencia obtenido en este estudio de *L. infantum* en hurones domésticos en una zona hiperendémica, como es la provincia de Valencia es del 53,93%, no es posible comparar este dato con otros obtenidos para esta misma especie en otros lugares, ya que no existen estudios previos, pero si es comparable con los datos en la seroprevalencia de otras especies domésticas como lo son el perro y el gato y con la prevalencia de esta infección en otras especies de mustélidos.

En la especie canina, la prevalencia de la infección por *L. infantum* a nivel nacional se encuentra entre 3,7% y 46,6%, mientras que la seroprevalencia es de alrededor del 10% (Gálvez *et al.*, 2020; Montoya-Alonso *et al.*, 2020). La seroprevalencia de esta infección en la Comunidad Valenciana es del 17,11%, valor superior al de la media nacional, ya que las condiciones meteorológicas de esta zona la convierten en un ambiente favorable para la reproducción de los flebótomos, díptero responsable de la transmisión.

En el caso del gato, esta prevalencia alcanza el 68,5% (Pennisi *et al.*, 2015), mientras que la seroprevalencia en esta especie en zonas endémicas puede alcanzar el 30% (Mesa-Sánchez *et al.*, 2020).

El valor de la prevalencia en gatos es más próximo al encontrado en este estudio sobre los hurones, y en ambos casos es superior al del perro, principal reservorio de *L. infantum*. Esto puede deberse a el control y la prevención llevada a cabo habitualmente con repelentes sobre el perro, que puede provocar que los hábitos de alimentación de los flebótomos se vean alterados derivando en infecciones en otros mamíferos (Basso *et al.*, 2016).

En cuanto a los mustélidos, los hallazgos en distintos estudios realizados mediante PCR de muestras de hígado y bazo, muestran una prevalencia de *L. infantum* en España del 70% (7/10) en nutrias (Oleaga *et al.* 2018), entre un 28,6% y 100% en garduñas (Alcover *et al.*, 2020; Del Rio *et al.*, 2014; Oleaga *et al.*, 2018; Ortuño *et al.*, 2019; Risueño *et al.*, 2018), entre el 30% y el 62,5% en martas (Del Rio *et al.*, 2014; Oleaga *et al.*, 2018), del 26,4% en tejones, del 50% en visones y del 25% en turones (Del Rio *et al.*, 2014).

Como se puede observar, en todas estas especies se obtuvieron unos altos valores de prevalencia por esta infección, esto puede indicar la sensibilidad de esta familia de mamíferos a la infección por *L. infantum*, además hay que tener presente que todos estos animales por su modo de vida en la naturaleza están especialmente expuestos a los flebótomos, lo que los puede hacer un reservorio idóneo para el parásito en su ciclo silvestre.

La seroprevalencia de las variables analizadas en este estudio, en todos los casos supera el 50%, incluso en el caso de los hurones de hábitat exterior esta cifra es superior al 60%, en esta variable se encuentra una asociación estadísticamente significativa, esto puede estar relacionado con que estos animales tienen un mayor riesgo de exposición al parásito, al igual que ocurre con los mustélidos salvajes, en los gatos de vida libre, donde en el estudio llevado a cabo en la provincia de Zaragoza por Alcover *et al.* (2021) se observó también una alta seroprevalencia de esta infección o en las liebres responsables del brote de leishmaniasis en Madrid (Carrillo *et al.*, 2013).

Los hurones de hábitat exterior y mixto son el 37% de los animales analizados, y en estos se encuentran las seroprevalencias más elevadas, por lo que sería de interés conocer el tipo de aptitud que tienen, si se trata de animales de compañía que únicamente residen en el exterior, terrazas, balcones, etc. o por el contrario son animales destinados para la caza, ya que a estos últimos se les presupone un mayor riesgo, aunque es bastante improbable que los animales incluidos en este estudio se encuentren en ese grupo, dado que estos hurones habitualmente no visitan al veterinario.

Algunos autores, señalan que a partir de los tres años los hurones se deben empezar a considerar animales geriátricos y con una mayor predisposición a padecer procesos patológicos (Johnson-Delaney, 2020), esto junto con el propio envejecimiento del animal puede favorecer la inmunosupresión y facilitar así la infección por *L. infantum*.

Actualmente la principal medida de prevención frente a la leishmaniosis es el uso de repelentes e insecticidas tópicos que eviten la picadura del flebótomo, los que han demostrado una mayor efectividad en el perro son los piretroides tópicos, como la permetrina. En el gato, sin embargo, la mayoría de estos productos resultan tóxicos y el único producto disponible con efecto repelente es un collar que combina flumetrina e imidacloprid (Seresto®, Bayer) (Brianti *et al.*, 2017; Gálvez *et al.*, 2018). En el hurón al igual que en el gato los piretroides resultan tóxicos y el collar pese a su demostrada efectividad en la prevención de la picadura de este parásito, no es una opción, debido a su anatomía que hace que resulte imposible colocarles un collar de una forma cómoda y sin que resulte un riesgo para el animal.

Existen otros métodos de prevención únicamente probados en el perro como la vacuna (LetiFend®, Leti) o la domperidona (Leisguard®, Ecuphar), este se trata de un fármaco inmunomodulador que estimula la inmunidad celular necesaria para evitar el desarrollo de la leishmaniosis, además también hay estudios que corroboran que los animales positivos a *L. infantum* a los que se les administro este fármaco transmitían una menor carga parasitaria a los flebótomos (Travi y Miró, 2018). Respecto al uso de este fármaco en hurones, se ha utilizado de forma experimental para la prevención del vómito en relación al uso de quimioterápicos (Lau *et al.*, 2005), pero su uso como preventivo de *L. infantum* es desconocido y requeriría de estudios específicos.

La ivermectina, es un antiparasitario usado comúnmente para la protección de *Dirofilaria immitis* en hurones, en un estudio llevado a cabo en roedores por Mascari y Foil (2010), se observó que este fármaco en condiciones experimentales tiene efecto insecticida frente a *P. papatasi*, su eficacia frente a *P. perniciosus*, el principal flebótomo presente en la Península Ibérica es desconocida, además sería conveniente realizar estudios en los que observar si la prevalencia de *L. infantum* es menor en animales a los que se les administra ivermectina de manera preventiva.

En este momento, la única medida disponible para proteger a estos animales es mediante el control ambiental de los flebótomos, para ello se debe evitar el acúmulo de materia orgánica en las inmediaciones y así evitar que estos insectos se reproduzcan, mantener a los animales a cubierto en las horas de mayor actividad de los flebótomos e instalar mosquiteras y pulverizarlas regularmente con permetrinas (Gálvez *et al.*, 2018).

Sería conveniente llevar a cabo estudios epidemiológicos con un mayor alcance con los que poder catalogar esta especie como posible reservorio de este parásito o como hospedador incidental, y así conocer la implicación de esta especie en el ciclo doméstico de la infección. Para ello sería necesario tener un conocimiento más amplio sobre el censo poblacional de estos animales en nuestro país, por lo que sería preciso establecer la obligatoriedad de identificarlos con microchip, llevar a cabo técnicas de xenodiagnóstico con las que conocer si los flebótomos se infectan con *L. infantum* cuando se alimentan de estos animales y poseer un mayor conocimiento sobre la carga parasitaria presente en estos animales y el desarrollo de la infección en los mismos.



## 8. CONCLUSIONES

---

Este estudio demuestra que los hurones se encuentran expuestos a *L. infantum* en una zona hiperendémica como es la Comunidad Valencia. Por otro lado, la proporción de animales positivos detectada es muy elevada y estos a día de hoy son los únicos datos científicos disponibles sobre la seroprevalencia en estos animales.

Este hallazgo tiene importantes repercusiones desde el punto de vista de la práctica clínica veterinaria. Por lo que, en este sentido, sería necesario que, en animales con signos clínicos compatibles con leishmaniosis, como esplenomegalia, hiperglobulinemia, linfadenomegalia, aumento de enzimas hepáticas o lesiones piogranulomatosas y que no son atribuibles a otros procesos patológicos, se llevaran a cabo pruebas de confirmación de la infección, incluyendo pruebas serológicas.

Los altos datos de seroprevalencia reflejados en este estudio sugieren que esta especie puede estar interviniendo en el mantenimiento del parásito en el entorno, lo que corrobora la necesidad de llevar a cabo más estudios que esclarezcan el papel epidemiológico que pueden estar jugando los hurones en la transmisión y mantenimiento de la leishmaniosis junto con la necesidad de desarrollar medidas preventivas específicas para esta especie.

La estrategia de prevención de la leishmaniosis se debe llevar a cabo desde el punto de vista “One Health”, ya que establecer planes de prevención y control de *L. infantum* sobre los animales repercute directamente sobre la incidencia de la infección en los humanos, por ello esta estrategia se debe centrar en reducir el riesgo de infección a nivel individual, y reducir la prevalencia a nivel poblacional.

### 8.1. CONCLUSIONS

This study shows that ferrets are exposed to *L. infantum* in a hyperendemic area such as the Valencia Community. On the other hand, the proportion of positive animals detected is very high and these are the only scientific data available today on seroprevalence in these animals.

This finding has important implications from the point of view of veterinary clinical practice. Therefore, in this sense, it would be necessary that, in animals with clinical signs compatible with leishmaniosis, such as splenomegaly, hyperglobulinemia, lymphadenomegaly, increased liver enzymes or pyogranulomatous lesions and that are not attributable to other pathological processes, tests confirmation of infection, including serological tests.

The high seroprevalence data reflected in this study suggest that this species may be intervening in the maintenance of the parasite in the environment, which corroborates the need to carry out more studies to clarify the epidemiological role that ferrets may be playing in transmission. and maintenance of leishmaniosis along with the need to develop specific preventive measures for this species.

The leishmaniosis prevention strategy should be carried out from the "One Health" point of view, since establishing prevention and control plans for *L. infantum* on animals has a direct impact on the incidence of infection in humans, for therefore, this strategy should focus on reducing the risk of infection at the individual level and reducing the prevalence at the population level.

## 9. VALORACIÓN PERSONAL

---

La realización de este trabajo me ha permitido ampliar mi conocimiento sobre la epidemiología y los factores clave en la transmisión de *L. infantum*, conocer su importancia como enfermedad zoonótica y la posibilidad de la existencia de nuevos reservorios, como los hurones.

Este trabajo, también me ha permitido interpretar resultados de laboratorio, así como valorar y comparar la relevancia de estos en relación a los obtenidos en otros estudios de similares características.

Además, me ha permitido adquirir una mayor destreza en la búsqueda y selección de información en paginas web de contenido científico o institucionales, obtener un mayor dominio del inglés técnico usado frecuentemente en veterinaria y conocer el procedimiento para elaborar un documento con base científica.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

---

- AEMET (2021). Valores climatológicos normales. Disponible en: <http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/datosclimatologicos/valoresclimatologicos> [Consultado 27-05-2021]
- Aït-Oudhia K., Harrat Z., Benikhlef R., Dedet J. P. y Pratlong F. (2011) “*Canine Leishmania infantum* enzymatic polymorphism: a review including 1023 strains of the Mediterranean area, with special reference to Algeria”. *Acta Trop*, 118(2), pp. 80-6. DOI: 10.1016/j.actatropica.2011.03.001
- Alcover M.M., Ballart C., Serra T., Castells X., Scalone A., Castillejo S., Riera C., Tebar S., Gramiccia M., Portús M. y Gállego M. (2013). “Temporal trends in canine leishmaniosis in the Balearic Islands (Spain): a veterinary questionnaire. Prospective canine leishmaniosis survey and entomological studies conducted on the Island of Minorca, 20 years after first data were obtained”. *Acta Trop.*, 128(3), pp. 642-51. DOI: 10.1016/j.actatropica.2013.09.008
- Alcover, M. M., Ribas, A., Guillén, M. C., Berenguer, D., Tomás-Pérez, M., Riera, C. y Fisa, R. (2020). “Wild mammals as potential silent reservoirs of *Leishmania infantum* in a Mediterranean area”. *Preventive Veterinary Medicine*, 175, 104874. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.104874
- Alcover, M. M., Basurco, A., Fernández, A., Riera, C., Fisa, R., Gonzalez, A., Verde, M., Garrido A. M., Ruíz, H., Yzuel, A. y Villanueva-Saz S. (2021) “A cross-sectional study of *Leishmania infantum* infection in stray cats in the city of Zaragoza (Spain) using serology and PCR”. *Parasites & Vectors*, 14 (178) DOI: 10.1186/s13071-021-04682-w
- Andrade, B. B., de Oliveira, C. I., Brodskyn, C. I., Barral, A. y Barral-Netto, M. (2007).” Role of Sand Fly Saliva in Human and Experimental Leishmaniasis: Current Insights”. *Scandinavian Journal of Immunology*, 66(2-3), pp. 122–127. DOI:10.1111/j.1365-3083.2007.01964.x
- Ballart, C., Alcover, M. M., Portús, M. y Gállego, M. (2012). “Is leishmaniasis widespread in Spain? First data on canine leishmaniasis in the province of Lleida, Catalonia, northeast Spain”. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(2), pp. 134-136. DOI:10.1016/j.trstmh.2011.11.001

- Basso, M. A., Marques, C., Santos, M., Duarte, A., Pissarra, H., Carreira, L. M., Gomes, L., Bolas, A., Tavares, L., Santos-Gomes, G. y Fonseca, I. (2016). "Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl-glucamine antimoniate". *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 2(1), DOI: 10.1177/2055116916630002
- Bates, P. A. (2007). "Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies". *International Journal for Parasitology*, 37(10), pp. 1097–1106. DOI: 10.1016/j.ijpara.2007.04.003
- Ben Slimane, T., Chouih, E., Ben Hadj Ahmed, S., Chelbi, I., Barhoumi, W., Cherni, S., Zoghalmi, Z., Gharbi, M. y Zhioua, E. (2014). "An investigation on vertical transmission of *Leishmania infantum* in experimentally infected dogs and assessment of offspring's infectiousness potential by xenodiagnoses". *Veterinary Parasitology*, 206(3-4), pp. 282-286. DOI:10.1016/j.vetpar.2014.10.020
- Branco S., Alves-Pires C., Maia C., Cortes S., Cristovão J. M., Gonçalves L., Campino L. y Afonso M. O. (2013). "Entomological and ecological studies in a new potential zoonotic leishmaniasis focus in Torres Novas municipality, Central Region, Portugal". *Acta Trop.*, 125(3) pp. 339-48. DOI: 10.1016/j.actatropica.2012.12.008
- Brianti, E., Falsone, L., Napoli, E., Gaglio, G., Giannetto, S., Pennisi, M. G., Priolo, V., Latrofa, M. S., Tarallo, V. D., Solari Basano, F., Nazzari, R., Deuster, K., Pollmeier, M., Gulotta, L., Colella, V., Dantas-Torres, F., Capelli, G y Otranto, D. (2017). "Prevention of feline leishmaniosis with an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% polymer matrix collar". *Parasites & vectors*, 10(1), pp. 334. DOI: org/10.1186/s13071-017-2258-6
- Cantos-Barreda, A., Navarro, R., Pardo-Marín, L., Martínez-Subiela, S., Ortega, E., Cerón, J. J., Tecles, F. y Escribano D. (2020) "Clinical leishmaniosis in a captive Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Spain: a case report". *BMC Vet Res*, 16, pp. 312. DOI: 10.1186/s12917-020-02509-x
- Cardoso, L. y Solano Gallego, L. (2013) "Leishmaniosis Canina. Epidemiología en Europa". En: Solano Gallego, L. (Coord.). *Leishmaniosis. Una revisión actualizada*. Zaragoza: Servet Editorial, pp. 17-30
- Cardoso, L., Schallig, H., Persichetti, M. F. y Pennisi, M. G. (2021). "New Epidemiological Aspects of Animal Leishmaniosis in Europe: The Role of Vertebrate Hosts Other Than

Dogs". *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(3), pp. 307. DOI: 10.3390/pathogens10030307

Carrillo, E., Moreno, J. y Cruz, I. (2013). "What is responsible for a large and unusual outbreak of leishmaniasis in Madrid?". *Trends in Parasitology*, 29(12), pp. 579–580. DOI: 10.1016/j.pt.2013.10.007

Cavalera, M.A., Iatta, R., Panarese, R., Mendoza-Roldan, J.A., Gernone, F., Otranto, D., Paltrinieri, S. y Zatelli, A. (2021). "Seasonal variation in canine anti-*Leishmania infantum* antibody titres". *The Veterinary Journal*, 271, DOI: 10.1016/j.tvjl.2021.105638

"Control de las leishmaniasis" *Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control las Leishmaniasis*, Ginebra, 22-26 de marzo de 2010. Ginebra: OMS, Serie de informes técnicos ISBN: 978 92 4 320949 4

Coutinho, M. T. Z., y Linardi, P. M. (2007). "Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals?". *Veterinary Parasitology*, 147(3-4), pp. 320-325. DOI:10.1016/j.vetpar.2007.04.008

Dantas-Torres, F. (2011). "Ticks as vectors of *Leishmania* parasites". *Trends in Parasitology*, 27(4), pp. 155-159. DOI:10.1016/j.pt.2010.12.006

De Colmenares M., Portús M., Botet J., Dobaño C., Gállego M., Wolff M., Seguí G. (1995) "Identification of blood meals of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: *Psychodidae*) in Spain by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay biotin/avidin method". *J Med Entomol.*, 32(3), pp. 229-33. DOI: 10.1093/jmedent/32.3.229. PMID: 7616511

Del Río, L., Chitimia, L., Cubas, A., Victoriano, I., De la Rúa, P., Gerrikagoitia, X., Barral, M., Muñoz-García, C. I., Goyena, E., García-Martínez, D., Fisa, R., Riera, C., Murcia, L., Segovia, M. y Berriatua, E. (2014). "Evidence for widespread *Leishmania infantum* infection among wild carnivores in *L. infantum* periendemic northern Spain". *Preventive Veterinary Medicine*, 113(4), pp. 430-435. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.12.001

Diniz, S. A., Melo, M. S., Borges, A. M., Bueno, R., Reis, B. P., Tafuri, W. L., Nascimento, E. F. y Santos, R. L. (2005). "Genital Lesions Associated with Visceral Leishmaniasis and Shedding of *Leishmania* sp. in the Semen of Naturally Infected Dogs". *Veterinary Pathology*, 42(5), pp. 650-658. DOI:10.1354/vp.42-5-650

- European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. Phlebotomine sandflies maps. Stockholm: ECDC; 2021. Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/phlebotomine-maps> [Consultado 28-05-2021]
- Ferreira, M. G. P. A., Fattori, K. R., Souza, F. y Lima, V. M. F. (2009). "Potential role for dog fleas in the cycle of *Leishmania* spp.". *Veterinary Parasitology*, 165(1-2), pp. 150-154. DOI:10.1016/j.vetpar.2009.06.026
- Fernández Martínez, B., Gómez Barroso, D., Cano Portero, R. (2019). *La Leishmaniasis En España: Evolución de los casos notificados a la Red Nacional De Vigilancia Epidemiológica desde 2005 a 2017 y resultados de la vigilancia de 2014 a 2017* Disponible en: <http://revista.isciii.es/index.php/bes/issue/view/254> [Consultado: 25-11-2020]
- Galán-Puchades, M. T., Gómez-Samblás, M., Suárez-Morán, J. M., Osuna, A., Sanxis-Furió, J., Pascual, J., Bueno-Marí, R., Franco, S., Peracho, V., Montalvo, T. y Fuentes, M. V. (2019). "Leishmaniasis in Norway Rats in Sewers, Barcelona, Spain". *Emerging Infectious Diseases*, 25(6), pp. 1222–1224. DOI: 10.3201/eid2506.181027
- Gálvez, R., Montoya, A., Cruz, I., Fernández, C., Martín, O., Checa, R., Chicharro, C., Miguelañez, S., Marino, V. y Miró, G. (2020). "Latest trends in *Leishmania infantum* infection in dogs in Spain, Part I: mapped seroprevalence and sand fly distributions". *Parasites & Vectors*, 13(1), pp. 204 DOI: 10.1186/s13071-020-04081-7
- Gálvez, R., Montoya, A., Fontal, F., Martínez De Murguía, L. y Miró, G. (2018). "Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: A case of knowing your enemy". *Research in Veterinary Science*, 121, pp. 94–103. DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.10.008
- Giner, J., Basurco, A., Alcover, M. M., Riera, C., Fisa, R., López, R. A., Juan-Sallés, C., Verde, M. T., Fernández, A., Yzuel, A. y Villanueva-Saz, S. (2020a). "First report on natural infection with *Leishmania infantum* in a domestic ferret (*Mustela putorius furo*) in Spain". *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 19, pp. 1-5. DOI: 10.1016/j.vprsr.2020.100369
- Giner, J., Villanueva-Saz, S., Alcover, M. M., Riera, C., Fisa, R., Basurco, A., Yzuel, A., Trotta, M., Fani, C., Verde, M. T. y Fernández, A. (2020b). "Treatment and follow-up of a domestic

ferret (*Mustela putorius furo*) with clinical leishmaniosis caused by *Leishmania infantum*". *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 21:100423. DOI: 10.1016/j.vprsr.2020.100423

Giner, J., Villanueva-Saz, S., Fernández, A., López-Sahuquillo, D., Verde, M. T., Basurco, A., Riera, C., Fiser, R. y Alcover, M. M. (2021). "*Leishmania infantum* en un hurón doméstico (*Mustela putorius furo*): Evolución serológica basada en la combinación terapéutica de miltefosina y alopurinol". *XX Congreso de Especialidades Veterinarias. AVEPA. Congreso Virtual*, 11-13 de mayo de 2021

Herwaldt, B. L. (1999). "Leishmaniasis" *Lancet*, 9185, pp. 1191-1199. DOI:10.1016/S0140-6736(98)10178-2

Johnson-Delaney, C. A. (2020). "Geriatric Ferrets". *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. DOI:10.1016/j.cvex.2020.04.002

Killick-Kendrick, R. (1999). "The biology and control of Phlebotomine sand flies". *Clinics in Dermatology*, 17(3), pp. 279–289. DOI:10.1016/s0738-081x(99)00046-2

Lau, A. H. Y., Ngan, M.-P., Rudd, J. A. y Yew, D. T. W. (2005). "Differential action of domperidone to modify emesis and behaviour induced by apomorphine in the ferret". *European Journal of Pharmacology*, 516(3), pp. 247–252. DOI:10.1016/j.ejphar.2005.05.028

Liu, D., y Uzonna, J. E. (2012). "The early interaction of *Leishmania* with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response". *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2:83. DOI:10.3389/fcimb.2012.00083

Lucientes, J., Palmero, J., Guarga, J. L., Gracia, M. J., Peribañez, M. A., Zarate, J. y Castillo, J. A. (2005). "Risk of transmission of canine leishmaniosis in eastern Spain". *Veterinary Record*, 156(23), pp. 743–744. DOI: 10.1136/vr.156.23.743

Maia, C. y Cardoso, L. (2015). "Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling". *Veterinary Parasitology*, 213(1-2), pp. 2-11. DOI:10.1016/j.vetpar.2015.05.003

Mascari, T. M. y Foil, L. D. (2010). "Oral treatment of rodents with ivermectin for the control of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions". *Veterinary Parasitology*, 171(1-2), pp. 130-135. DOI:10.1016/j.vetpar.2010.03.018

- Maroli, M., Feliciangeli, M. D., Bichaud, L., Charrel, R. N. y Gradoni, L. (2012). "Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern". *Medical and Veterinary Entomology*, 27(2), pp. 123–147. DOI:10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x
- Martín Marín, I. E. (2014). *Estudio de la saliva de Phlebotomus perniciosus y su potencial aplicación en la epidemiología y control de Leishmania infantum*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Martin Sánchez, J., Acedo, C., Muñoz Pérez, M., Pesson, B., Marchal, O. y Morillas Márquez, F. (2007). "Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain". *Veterinary Parasitology*, 145(3-4), pp. 267-273. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.11.005
- Masucci, M., De Majo, M., Contarino, R. B., Borruto, G., Vitale, F. y Pennisi, M. G. (2003). "Canine Leishmaniasis in the Newborn Puppy". *Veterinary Research Communications*, 27, pp. 771-774. DOI:10.1023/b:verc.0000014268.61966.69
- Mesa-Sánchez, I., Ferreira, R. R. F., Cardoso, I., Morais, M., Flamínio, M., Vieira, S., de Gopegui, R. R. y de Matos, A. J. F. (2020). "Transfusion transmissible pathogens are prevalent in healthy cats eligible to become blood donors" *Journal of Small Animal Practice*, 62(2), pp. 107-113. DOI: 10.1111/jsap.13257
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2015). Análisis y caracterización del sector de los animales de compañía. Madrid: MAPA
- Miró, G., Rupérez, C., Checa, R., Gálvez, R., Hernández, L., García, M., Canorea, I., Marino, V. y Montoya, A. (2014). "Current status of *L. infantum* infection in stray cats in the Madrid region (Spain): implications for the recent outbreak of human leishmaniasis?" *Parasites & Vectors*, 7(1), pp. 112. DOI:10.1186/1756-3305-7-112
- Montoya, A., García, M., Gálvez, R., Checa, R., Marino, V., Sarquis, J., Barrera, J. P., Rupérez, C., Caballero, L., Chicharro, C., Cruz, I. y Miró, G. (2018). "Implications of zoonotic and vector-borne parasites to free-roaming cats in central Spain". *Veterinary Parasitology*, 251, pp. 125-130. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.01.009
- Montoya-Alonso, J. A., Morchón, R., Costa-Rodríguez, N., Matos, J. I., Falcón-Cordón, Y. y Carretón, E. (2020). "Current Distribution of Selected Vector-Borne Diseases in Dogs in Spain". *Front. Vet. Sci.*, 7:564429. DOI: 10.3389/fvets.2020.564429



- Moreno, J. y Alvar, J. (2002). "Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model". *Trends in Parasitology*, 18(9), pp. 399-405. DOI:10.1016/s1471-4922(02)02347-4
- Oleaga, A., Zanet, S., Espí, A., Pegoraro de Macedo, M. R., Gortázar, C. y Ferroglio, E. (2018). "Leishmania in wolves in northern Spain: A spreading zoonosis evidenced by wildlife sanitary surveillance". *Veterinary Parasitology*, 255, pp. 26-31. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.03.015
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). Leishmaniasis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> [Consultado: 25-11-2020]
- Ortuño M., Latrofa M. S., Iborra M. A., Pérez-Cutillas P., Bernal L. J., Risueño J., Muñoz C., Bernal A., Sánchez-Lopez P.F., Segovia M., Annoscia G., Maia C., Cortes S., Campino L., Otranto D. y Berriatua E. (2019). "Genetic diversity and phylogenetic relationships between *Leishmania infantum* from dogs, humans and wildlife in south-east Spain". *Zoonoses Public Health*, 66(8), pp. 961-973. DOI: 10.1111/zph.12646
- Pennisi, M. G. (2015). "Leishmaniosis of companion animals in Europe: An update". *Veterinary Parasitology*, 208(1-2), pp. 35-47. DOI:10.1016/j.vetpar.2014.12.023
- Pennisi, M. G., Cardoso, L., Baneth, G., Bourdeau, P., Koutinas, A., Miró, G., Oliva, G. y Solano-Gallego, L. (2015). "LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis". *Parasites & Vectors*, 8(1), pp. 302. DOI:10.1186/s13071-015-0909-z
- Portús, M., Gállego, M., Riera, M. & Aisa, M.J., Fisa, R. y Castillejo, S. (2002). "Wild and domestic mammals in the life cycle of *Leishmania infantum* in Southwest Europe. A literature review and studies performed in Catalonia (Spain)". *Rev. Iber. Parasitol.*, 62, pp. 72-76. Disponible en: [https://bibliotecavirtual.ranf.com/es/catalogo\\_imagenes/grupo.cmd?path=1001923](https://bibliotecavirtual.ranf.com/es/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1001923) [Consultado 27-11-2020]
- Riera, C., Valladares, J.E., Gállego, M., Aisa, M.J., Castillejo, S., Fisa, R., Ribas, N., Carrió, J., Alberola, J. y Arboix, M. (1999) "Serological and parasitological follow-up in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum* and treated with meglumine antimoniate". *Vet. Parasitol.*, 84, pp. 33-47. DOI: 10.1016/s0304-4017(99)00084-9

- Risueño, J., Ortuño, M., Pérez-Cutillas, P., Goyena, E., Maia, C., Cortes, S., Campino, L., Bernal, L. J., Muñoz, C., Arcenillas, I., Martínez-Roldan, F. J., González, M., Collantes, F., Ortiz, J., Martínez-Carrasco, C. y Berriatua, E. (2018). "Epidemiological and genetic studies suggest a common *Leishmania infantum* transmission cycle in wildlife, dogs and humans associated to vector abundance in Southeast Spain". *Veterinary Parasitology*, 259, pp. 61-67. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.05.012
- Rosypal, A. C., Troy, G. C., Zajac, A. M., Frank, G. y Lindsay, D. S. (2005). "Transplacental Transmission of a North American Isolate of *Leishmania infantum* in an Experimentally Infected Beagle". *Journal of Parasitology*, 91(4), pp. 970-972. DOI:10.1645/ge-483r.1
- Schantz, P. M., Steurer, F. J., Duprey, Z. H., Kurpel, K. P., Barr, S. C., Jackson, J. E., Breitschwerdt, E. B., Levy, M. G. y Fox, J. C. (2005). "Autochthonous visceral leishmaniasis in dogs in North America". *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), pp. 1316-1322. DOI:10.2460/javma.2005.226.1316
- Sherry, K., Miró, G., Trotta, M., Miranda, C., Montoya, A., Espinosa, C., Ribas, F., Furlanello T. y Solano-Gallego, L. (2011). "A Serological and Molecular Study of *Leishmania infantum* Infection in Cats from the Island of Ibiza (Spain)". *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(3), pp. 239-245. DOI:10.1089/vbz.2009.0251
- Silva, F. L., Oliveira, R. G., Silva, T. M. A., Xavier, M. N., Nascimento, E. F. y Santos, R. L. (2009). "Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis". *Veterinary Parasitology*, 160(1-2), pp. 55-59. DOI:10.1016/j.vetpar.2008.10.079
- Slama, D., Haouas, N., Remadi, L., Mezhoud, H., Babba, H. y Chaker, E. (2014). "First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: *Trypanosomatidae*) in *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*)". *Parasites & Vectors*, 7(1), pp. 51. DOI:10.1186/1756-3305-7-51
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G. y Baneth, G. (2009). "Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis". *Veterinary Parasitology*, 165(1-2), pp. 1-18. DOI:10.1016/j.vetpar.2009.05.022
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G. y Baneth, G. (2011). "LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis". *Parasites Vectors*, 4, pp. 86. DOI:10.1186/1756-3305-4-86

- Solano-Gallego, L. y Villanueva-Saz, S. (2013). "Leishmaniosis humana". En: Solano Gallego, L. (Coord.). *Leishmaniosis. Una revisión actualizada*. Zaragoza: Servet Editorial, pp. 3-14
- Tabar, M. D., Roura, X., Francino, O., Altet, L. y Ruizde Gopegui, R. (2008). "Detection of *Leishmania infantum* by real-time PCR in a canine blood bank". *Journal of Small Animal Practice*, 49(7), pp. 325-328. DOI:10.1111/j.1748-5827.2008.00542.x
- Tarallo, V. D., Dantas-Torres, F., Lia, R. P. y Otranto, D. (2010). "Phlebotomine sand fly population dynamics in a leishmaniasis endemic peri-urban area in southern Italy". *Acta Tropica*, 116(3), pp. 227–234. DOI:10.1016/j.actatropica.2010.08.013
- Travi, B. L. y Miró, G. (2018). "Use of domperidone in canine visceral leishmaniasis: gaps in veterinary knowledge and epidemiological implications". *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 113(11). DOI:10.1590/0074-02760180301
- Trotta, M., Nicetto, M., Fogliazza, A., Montarsi, F., Caldin, M., Furlanello, T. y Solano-Gallego, L. (2012). "Detection of *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, and *rickettsiae* in ticks removed from dogs living in Italy". *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 3(5-6), pp. 294-297. DOI:10.1016/j.ttbdis.2012.10.031
- Villanueva-Saz S., Giner J., Verde M., Yzuel A., Ruiz H., Lacasta D., Riera C., Fisa R., Alcover M. M., Fernández A. (2021) "Antibodies to *Leishmania* in naturally exposed domestic ferrets (*Mustela putorius furo*) in Spain". *Veterinary Parasitology*, DOI: 10.1016/j.vetpar.2021.109492