



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Manifestaciones cutáneas de la Leishmaniosis canina: aspectos clínicos e inmunopatológicos

Skin patterns in canine Leishmaniasis: clinical and immunohistopathological features

Autor/es

Layla Naimeh Barrios Awadallah

Director/es

María Teresa Verde Arribas

Sergio Villanueva Saz

Facultad de Veterinaria

2022-2023

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	3
4. METODOLOGÍA.....	4
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
5.1. Patogenia de la leishmaniosis canina.....	5
5.2. Aspectos clínicos de la leishmaniosis cutánea canina.....	9
A. Dermatitis exfoliativa.	10
B. Alteraciones ungueales.	12
C. Dermatitis nodular.	13
D. Hiperqueratosis nasodigital.	15
E. Dermatopatía isquémica.....	16
F. Dermatitis pápulo-pustulosas	18
G. Dermatitis alopécica.....	21
H. Dermatitis erosivas-ulcerativas.....	22
5.3. Diagnóstico.....	26
5.4. Tratamiento.....	28
6. CONCLUSIONES	29
7. VALORACIÓN PERSONAL	31
8. BIBLIOGRAFÍA.....	32

1. RESUMEN/ABSTRACT

La leishmaniosis es una enfermedad zoonótica y endémica en España. Se trata de una enfermedad granulomatosa crónica, cuyo agente etiológico es *Leishmania infantum* que se transmite a través de la picadura de flebotomos, siendo más susceptible la especie canina que es considerada el primer reservorio. Entre las enfermedades vectoriales de la cuenca mediterránea, la leishmaniosis es, sin lugar a duda, la más frecuente y objeto diario de consultas veterinarias en la clínica de animales de compañía. Por eso es necesaria una actualización constante de los conocimientos de esta enfermedad; ya que, además de ser zoonótica, tiene una amplia distribución mundial, su sintomatología es variable y cuenta con una gran diversidad en sus formas de presentación, siendo las más comunes la leishmaniosis cutánea y la visceral.

Las enfermedades cutáneas representan del 15 al 25% de las consultas dermatológicas veterinaria, por ello es importante conocer las formas cutáneas asociadas a la leishmaniosis para poder incluirlas en los diagnósticos diferenciales de las dermatopatías. Las manifestaciones cutáneas más frecuentes que puede presentar la leishmaniosis son la dermatitis exfoliativa, la dermatitis ulcerativa, las alteraciones ungueales (onicogriposis), la dermatitis nodular, las dermatitis pápulas-pustulosas, dermatitis alopecica, dermatopatía isquémica e hiperqueratosis nasoplantar. La evolución de la enfermedad dependerá de la virulencia del parásito, de la dosis inoculada por el vector, de la respuesta inmunitaria y de la predisposición genética del hospedador.

Este trabajo de fin de grado trata de desarrollar las distintas manifestaciones cutáneas de la leishmaniosis canina, teniendo en cuenta los distintos métodos de diagnósticos directos (citología/histología, biopsias cutáneas, punciones cutáneas), moleculares (reacción en la cadena de polimerasa) y serológicos (inmunofluorescencia indirecta o ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas). En cuanto a las posibles opciones terapéuticas, después de la revisión realizada, se ha llegado a la conclusión de que una combinación de sales antimoniales con alopurinol parece ser la terapia más eficaz en la fase clínica.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a zoonotic disease endemic in Spain. It is a chronic granulomatous disease, whose aetiological agent is *Leishmania infantum*, transmitted through the bite of phlebotomine sandflies, with the canine species being the most susceptible and considered the main reservoir. Among the vector-borne diseases of the Mediterranean basin, leishmaniasis is undoubtedly the most frequent and is the daily subject of veterinary consultations in pet clinics. For this reason, it is necessary to constantly update our knowledge of this disease; as well as being zoonotic, it has a wide worldwide distribution, its symptoms are variable and it has a great diversity in its forms of presentation, the most common being cutaneous leishmaniasis and visceral leishmaniasis.

Skin diseases account for 15-25% of veterinary dermatological consultations, so it is important to know the cutaneous forms associated with leishmaniasis in order to include them in the differential diagnosis of dermopathies. The most common cutaneous manifestations of leishmaniasis are exfoliative dermatitis, ulcerative dermatitis, nail changes (onychogryposis), nodular dermatitis, papular-pustular dermatitis, alopecic dermatitis, ischaemic dermatopathy and nasoplantar hyperkeratosis. The course of the disease depends on the virulence of the parasite, the dose inoculated by the vector, the immune response and the genetic predisposition of the host.

This final degree thesis deals with the different cutaneous manifestations of canine leishmaniasis, taking into account the different direct (cytology/histology, skin biopsies, skin punctures), molecular (polymerase chain reaction) and serological (indirect immunofluorescence or enzyme-linked immunoadsorption assay) diagnostic methods. In terms of possible therapeutic options, after review, it has been concluded that a combination of antimonial salts with allopurinol appears to be the most effective therapy in the clinical phase.

2. INTRODUCCIÓN

La leishmaniosis canina es una enfermedad que varía en gravedad desde una forma cutánea focal hasta un proceso visceral diseminado. Es una enfermedad bastante común en áreas endémicas. Clínicamente, se clasifica en tres formas principales, que son la forma visceral, la forma cutánea y finalmente la de tipo mucocutáneo (Sasani et al., 2016). Las lesiones cutáneas son la manifestación clínica más frecuente, por ello este trabajo se centra en la leishmaniosis cutánea canina ya que se considera un problema veterinario importante. Los signos clínicos son consecuencia de procesos inflamatorios y lesiones inmunomediadas, que se asocian con la multiplicación de amastigotes dentro de los macrófagos y otras células del sistema fagocítico mononuclear. En general, el diagnóstico definitivo de las lesiones de la piel en un perro con leishmaniosis se basa en la combinación de las características clínicas (aparición macroscópica), la exclusión de los principales diagnósticos diferenciales, una histopatología compatible y positiva a inmunohistoquímica específica, o bien la demostración de los parásitos en citología de las lesiones de la piel (Ordeix y Roura, 2020).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Actualmente, en la especie canina, las enfermedades cutáneas representan del 15 al 25% de las consultas dermatológicas (Verde, 2010; Ordeix y Roura, 2020). Esta revisión bibliográfica se centra en la importancia de la leishmaniosis y la diversidad de las presentaciones cutáneas. Esta enfermedad puede manifestarse de formas diversas, siendo la más frecuente la forma cutánea ya que representa el 80% de la incidencia (Ordeix y Roura, 2020). Por ello, es de suma importancia tenerla en consideración e incluirla en los diagnósticos diferenciales de una gran variedad de patrones clínicos cutáneos (Verde, 2018).

El principal objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre leishmaniosis canina, centrada en las manifestaciones cutáneas, tratando de proporcionar información específica sobre las lesiones macroscópicas e histológicas de perros con leishmaniosis, así como su patogenia y diagnóstico. Para ello, se desarrolla la recogida de información sobre las descripciones de los patrones clínicos cutáneos de la leishmaniosis conocidos hasta el momento, el estudio de los mecanismos inmunopatológicos a través de los cuales se hacen presentes los

signos clínicos cutáneos y la valoración de las pruebas diagnósticas disponibles para establecer el diagnóstico de los cuadros clínicos de leishmaniosis cutánea.

4. METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este trabajo se ha realizado una búsqueda de información científica y una revisión de artículos científicos sobre la leishmaniosis cutánea, habiendo seleccionado un total de 48 de 250 referencias última fecha vista del 03/11/2023, las cuales ofrecen información relevante y actualizada sobre el tema. Han sido descartados aquellos estudios y artículos que consideramos que no proporcionan información relevante para ser utilizada en esta revisión.

La información se ha obtenido mediante el uso de los buscadores Web of Science, PUBMED, SCIENCE DIRECT, MEDLINE, Dialnet, ELSEVIER, Portal Veterinaria en combinación con la búsqueda en revistas especializadas como Veterinary Dermatology, Parasites & Vectors, The Veterinary Journal, Trends in Parasitology, o Journal of the American Veterinary Medical Association, entre otras. De igual forma, se han utilizado como fuente de información libros especializados de diversas editoriales.

Para la búsqueda se utilizaron las siguientes palabras clave: canine cutaneous leishmaniasis, canine cutaneous leishmaniasis clinical pattern, canine cutaneous leishmaniasis pathological pattern, immunopathological leishmania mechanism, leishmania pathogenesis, canine skin leishmaniosis histopathology, leishmania cutaneous treatment, canine leishmania clinical diagnosis.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La leishmaniosis canina es una enfermedad frecuente en zonas tropicales y subtropicales causada por un protozoo intracelular obligado que pertenece a la familia *Trypanosomatidae* y al género *Leishmania* (Miró et al., 2017). La especie más importante en nuestro entorno desde el punto de vista veterinario y de la salud pública es *Leishmania infantum*, presentándose como una enfermedad infecciosa multisistémica y zoonótica. La leishmaniosis se desarrolla a nivel visceral, cutánea y mucocutánea (Sunter y Gull, 2017). Su transmisión se produce a través de la picadura de la hembra de *Phlebotomus perniciosus* y *Phlebotomus ariasi*, únicos vectores biológicos demostrados para la transmisión del parásito (Encinas Aragón et al., 2006; Kaszak, Panellas y Dwrecka-Kaszak, 2015). La Leishmaniosis la pueden padecer perros de cualquier raza y sexo, aunque parece que existe más susceptibilidad en perros de razas grandes que vivan en

el exterior (Kaszak, Panellas y Dwrecka-Kaszak, 2015). El protozoo causante de esta enfermedad se puede encontrar en dos estadios diferentes a lo largo de su ciclo biológico llamados promastigote y amastigote (Pennisi, 2015). El promastigote es la forma infectiva flagelada y móvil, que se multiplica en el intestino del vector, y el amastigotes es la forma que se replica intracelularmente en los macrófagos del huésped, que no posee flagelo, y que por lo tanto es inmóvil (Antonioni et al., 2013). El periodo de incubación varía entre tres meses y varios años (Kaszak, Panellas y Dwrecka-Kaszak, 2015). Aunque las lesiones cutáneas son la manifestación clínica más frecuente, existen varios escenarios clínicos dependiendo de factores no bien conocidos, pero donde la genética y el sistema inmunitario del paciente tiene importancia marcada (Saridomichelakis y Koutinas, 2014). Este trabajo se centra solo en las manifestaciones cutáneas ya que estas forman un abanico muy amplio y deben considerarse en el diagnóstico diferencial de muchas dermatopatías. Las principales presentaciones cutáneas de la leishmaniosis canina son dermatitis exfoliativa, erosiva-ulcerativa, nodular, pápulo-pustulosa, alopecias, hiperqueratosis nasodigital y alteraciones ungueales. A nivel histopatológico, las lesiones se caracterizan por infiltrados inflamatorios mononucleares. En relación con la técnica inmunohistoquímica es posible detectar cantidades variables de amastigotes de *Leishmania* están presentes tanto en la piel lesionada como en piel normal de los perros con leishmaniosis (Saridomichelakis y Koutinas 2014).

La infección por *L. infantum* en perros es endémica en más de 70 países del mundo, pero se desconoce la prevalencia global en perros domésticos (Gradoni, 2015). Se trata de una enfermedad con amplia distribución en Europa, Asia, África y América, teniendo una alta mortalidad en los perros (Solano-Gallego et al., 2011). La leishmaniosis tiene tres formas de presentación, siendo la cutánea la más común, alcanzando una incidencia de hasta el 80% (Saridomichelakis y Koutinas 2014). Los factores de riesgo del propio animal asociados con la *Leishmania* en zonas endémicas son el estilo de vida, la edad, el tamaño, el género, la raza, la genética (Solano-Gallego et al., 2009) y la aparición de coinfecciones transmitidas por vectores como *Dirofilaria immitis* o *Ehrlichia canis*, que pueden repercutir en la carga parasitaria y en el incremento de la leishmaniosis canina (Sasani et al., 2016).

5.1. Patogenia de la leishmaniosis canina

La leishmaniosis es una enfermedad multisistémica que llega afectar a muchos órganos, incluida la piel. Los aspectos clínicos que se llegan a observar son consecuencia de las

reacciones inmunológicas que tiene lugar en un perro con leishmaniosis. Resumiendo, los mecanismos inmunológicos que da lugar a una infestación por *L. infantum*, podemos decir que, existen dos tipos de respuesta en los hospedadores: respuesta tipo Th1 (linfocitos T helper 1) y tipo Th2 (linfocitos T helper 2) (Verde, 2010).

Una vez que el flebotomo inyecta el amastigote de la *Leishmania* en la piel del perro, el parásito es fagocitado por los macrófagos dérmicos y células dendríticas. Después, se desencadena una respuesta inmunitaria-inflamatoria local de tipo innato, no específica (Ferrer y Roura, 2011). Es posible, aunque no se ha podido demostrar de forma evidente en el perro, que en algunos individuos la infección termine aquí y la respuesta inflamatoria elimine totalmente a los parásitos (Solano-Gallego et al., 2013). En la mayoría de los perros, sin embargo, la infección local se mantiene y puede extenderse hasta el nódulo linfático regional. A la vez, el perro va desarrollando una respuesta inmunitaria específica (Koutinas y Koutinas, 2014; Galán et al., 2022). En la mayoría de los perros, la respuesta inflamatoria llega a ser efectiva en el control de la infección. Los macrófagos y células dendríticas presentan los antígenos de *Leishmania* spp. y se activan clones de linfocitos Th-1 específicos que producen, entre otras, Interleucinas de tipo 2 (IL-2), gamma-interferón y un potente activador de los macrófagos vía la producción de óxido nítrico. Las moléculas leishmanicidas producidas por una óxido nítrico-sintetasa tiene una función protectora importante a largo plazo (Verde, 2010; Papadogiannakis y Koutinas, 2015; Ferrer, 2016; Organización Panamericana de la salud, 2019). Se cree que en estos perros sólo persiste un número reducido de parásitos en células no productoras de óxido nítrico (por ejemplo, fibroblastos) y, por tanto, no hay progreso de la infección, ni lesiones, ni signos clínicos. Los individuos con un predominio de la inmunidad celular con respuesta de tipo Th1, eliminan fácilmente los amastigotes. Siendo una defensa efectiva (Ferrer y Roura, 2011; Organización Panamericana de la salud, 2019; Ordeix et al 2019; Baneth y Solano-Gallego, 2022).

Los signos clínicos de la leishmaniosis son consecuencia de la respuesta inflamatoria del sistema inmune, por lo que se considera una enfermedad inmunomediada, que aprovecha una respuesta inmunitaria anómala del hospedador. Por ello, es importante tener en cuenta que existen perros con diferentes niveles de susceptibilidad y perros resistentes a la enfermedad. Siendo esta situación de resistencia y susceptibilidad no estática, es decir que mantienen al perro en un equilibrio que puede desestabilizarse en cualquier momento cuando intervienen factores que desestabilizan el equilibrio inmunitario. Desde el punto de vista clínico, los susceptibles (los que van a enfermar) presentan una mayor respuesta humoral, una menor respuesta celular, un predominio de inmunofenotipo Linfocito T herper2

(Th2), una carga parasitaria elevada y la expresión de citocinas mixtas en la dermis (Koutinas y koutinas, 2014; Ríos, 2015); mientras que los resistentes tienen menor respuesta humoral, una mayor respuesta celular, una baja carga parasitaria y un predominio de inmunofenotipo Th1 (Ríos, 2015; Ferrer, 2016; Organización panamericana de la salud, 2019; Ordeix et al., 2019).

Cuando en un perro la infección local evoluciona hacia la generalización, el tipo de respuesta inmunitaria que se desarrolla es predominantemente de tipo humoral, resultado de la activación de clones de linfocitos T helper-2 (Th2), que conducen a la producción de inmunoglobulinas específicas. Estas inmunoglobulinas (sobre todo IgG e IgM), aunque alcanzan títulos elevados, no son protectoras y la infección seguirá progresando, apareciendo lesiones y signos clínicos (Ferrer y Roura, 2011; Ríos, 2015; Organización Panamericana de la salud, 2019). Esta es la situación de los perros que responden con una ausencia o reducción de la inmunidad celular y una potente respuesta humoral, mediada por linfocitos Th2. En el fagolisosoma, los promastigotes se transforman en amastigotes y ahí son capaces de sobrevivir y multiplicarse profusamente, hasta que causan la destrucción del macrófago infectado. Los amastigotes liberados son capaces de invadir y colonizar los macrófagos del hospedador y multiplicarse en su interior con facilidad. Después se llega a diseminar por vía linfática y sanguínea para llegar a los macrófagos de sitios distantes como el nódulo linfático, el hígado, el bazo, la médula ósea, otros tejidos orgánicos y la piel (diseminación cutánea). En este proceso, la respuesta humoral predomina, tratando de frenar la diseminación del parásito mediante una elevada producción de anticuerpos, mecanismo que resulta ineficaz. Por lo tanto, la respuesta Th2 resulta negativa ya que es inútil para la eliminación de los amastigotes y, además, colateralmente provoca daños orgánicos importantes. Por ello todos estos individuos desarrollarán una leishmaniosis clínica. (Solano-Gallego et al., 2013; Koutinas y koutinas, 2014; Ferrer, 2016; Organización Panamericana de la salud, 2019; Ordeix y Roura, 2020; Baneth y Solano-Gallego, 2022).

En los cuadros subclínicos de la enfermedad, el infiltrado linfocítico cutáneo y los parásitos estarán ausentes, a diferencia de los perros con leishmaniosis clínica donde las células plasmáticas superan en número a los linfocitos T en el infiltrado dérmico. Existe una sobreproducción de interleucina (IL-4), interleucina (IL-13), Interleucinas (IL-10), Interleucinas (IL-5) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que conduce a una respuesta inmunitaria humoral sesgada por Th2 (Solano-Gallego et al., 2013; Papadogiannakis y Koutinas, 2015; Baneth y Solano-Gallego, 2022).

La razón por la cual algunos perros controlan la infección y otros no es algo que todavía no está suficientemente aclarado. Se supone que la genética de cada individuo es un factor fundamental. De hecho, en algunas razas, aunque la infección sea frecuente, la leishmaniosis clínica es muy rara (Podenco Ibicenco) y en otras, la leishmaniosis clínica grave es una evolución común (Bóxer, Pastor Alemán o Rottweiler) (Ferrer y Roura, 2011; Ordeix et al., 2019).

Las reacciones de fase aguda y de inflamación granulomatosa llegan a ser constantes, en mayor o menor grado, en casi todos los casos y son responsables de signos clínicos comunes como fiebre, adelgazamiento, atrofia muscular-miositis y lesiones cutáneas. En definitiva, se ha evidenciado que, en un gran número de casos, los responsables de las manifestaciones cutáneas son los procesos inflamatorios granulomatosos crónicos (Ferrer y Roura, 2011; Sasani et al., 2016; Organización Panamericana de la salud, 2019; Ordeix y Roura, 2020).

Otro mecanismo muy importante es la producción de inmunocomplejos. Los complejos inmunitarios, formados por inmunoglobulinas (IgG, IgM) (hipersensibilidad de tipo III) y antígeno de *Leishmania*, circulan libremente y acaban por depositarse en zonas estratégicas de diversos tejidos, hasta donde han llegado a través de la circulación sanguínea. Los depósitos de inmunocomplejos en los glomérulos renales, la úvea o las membranas sinoviales, dan lugar a glomerulonefritis, vasculitis, uveítis y sinovitis-artritis. Obviamente, no en todos los casos se producen inmunocomplejos, ni tampoco lesiones en todos los órganos citados (Ferrer y Roura, 2011; Solano Gallego et al., 2013; Koutinas y Koutinas, 2014; Organización Panamericana de la salud, 2019).

Los depósitos de inmunocomplejos también pueden localizarse en los pequeños vasos de los plexos cutáneos, dando lugar a vasculitis cutáneas, que clínicamente se manifiestan por lesiones dérmicas necróticas en regiones anatómicas distales y en los pabellones auriculares, consecuencia de la isquemia local generada por la vasculitis (Papadogiannakis y Koutinas, 2015).

Otros mecanismos que también contribuyen al cuadro clínico, en algunos perros, son los trastornos hemostáticos (trombopatías), la producción de autoanticuerpos, la depresión de la eritropoyesis (anemia de enfermedad crónica) o la inmunosupresión. Por tanto, las lesiones observadas en la leishmaniosis clínica pueden aparecer como consecuencia de la activación de numerosos mecanismos inmunopatogénicos (Ferrer y Roura, 2011; Solano Gallego et al., 2013; Koutinas y Koutinas, 2014; Organización Panamericana de la salud, 2019; Ordeix y Roura, 2020).

Las manifestaciones cutáneas de la leishmaniosis canina también serán el resultado de la respuesta inmunológica de diversos mecanismos inmunopatogénicos como la respuesta de fase aguda, la inflamación granulomatosa o los depósitos de inmunocomplejos. Si bien, parece que existe un predominio de las reacciones inflamatorias granulomatosas.

La polarización de la inmunidad humoral en la leishmaniosis canina sigue siendo un aspecto controvertido (Verde, 2010; Papadogiannakis y Koutinas, 2015). Por lo que, todavía, queda mucho por aprender sobre los mecanismos subyacentes a la compleja interacción entre el sistema inmunitario de la piel y el parásito (Verde, 2010; Papadogiannakis y Koutinas, 2015). Recientemente, se ha estudiado la implicación de los receptores tipo Toll (TLR) en la inmunopatogénesis de la *Leishmania* (Ordeix et al., 2019). Los TLR son moléculas receptoras y de reconocimiento de patógenos microbianos que inducen respuesta inflamatoria. En los estudios realizados, se evaluó la expresión del TLR2 en 11 perros naturalmente infectados, que clínicamente se caracterizaban por presentar una dermatitis pápular (Ordeix y Roura, 2020). La técnica Inmunohistoquímica reveló que el TLR2 parece estar asociado con la progresión de la enfermedad, observándose un aumento significativo de su regulación en la piel dañada de perros enfermos en comparación con la piel sana (Ordeix y Roura, 2020). Por lo tanto, parece que aumenta la expresión de los TLRs debida a una inflamación provocada por la infección por *L. Infantum* (Sasani et al., 2016).

5.2. Aspectos clínicos de la leishmaniosis cutánea canina

La leishmaniosis cutánea canina presenta una amplia variedad de cuadros clínicos pudiendo identificarse uno o varios de ellos de forma conjunta en el mismo animal. La información recogida a lo largo de esta revisión confirma que más del 80% de las leishmaniosis caninas presentan sintomatología dermatológica (Ordeix y Roura, 2020). Por ello, es primordial conocer cada una de las manifestaciones ya que esto evitará problemas a la hora de diagnosticar dermatopatías.

Las razas más susceptibles de padecer la enfermedad son los perros Bóxer, Pastor Alemán, Rottweiler, Dóberman y Cocker Spaniel; frente al Podenco Ibicenco como raza más resistente mencionado anteriormente. La enfermedad tiene una presentación bimodal, de manera que aparece con mayor frecuencia antes de los 3 años y después de los 8 años (Solano-Gallego et al., 2013; Ordeix y Roura, 2020).

Las manifestaciones cutáneas de la leishmaniosis canina descritas hasta el momento, por orden de frecuencia de presentación son:

- A. Dermatitis exfoliativas
- B. Alteraciones ungueales
- C. Dermatitis nodulares
- D. Hiperqueratosis nasodigital
- E. Dermatopatías isquémicas
- F. Dermatitis pápulo-pustulosas
- G. Dermatitis alopécicas
- H. Dermatitis erosivas- ulcerativas

A. Dermatitis exfoliativa.

Los **aspectos clínicos** de la dermatitis exfoliativa incluyen descamación con escamas típicas, secas, denominadas amiantáceas que tienen un color blanquecino tirando a grisáceo (Rios, 2015). Se considera como la presentación dermatológica más frecuente de la enfermedad (Ordeix y Roura, 2020). La aparición de la descamación en grandes magnitudes es característico de la leishmaniosis (Fig.1A). Por lo general no se acompaña de prurito y la aparición de las escamas precede a la alopecia (Fig.1B) (Ordeix et al., 2019).

La **localización** más frecuente, que suele ser bilateral, afecta a la zona facial, pabellones auriculares, zona periocular y en el puente nasal (Vich, 2016). También es muy frecuente que estén afectadas las zonas distales de las extremidades y las zonas escamosas pueden llegar a erosionarse (Solano Gallego et al., 2013). En un proceso más crónico se vería una descamación más generalizada, aunque también puede afectar solo a la cabeza. Sin embargo, las escamas tienden a involucrar progresivamente las cuatro extremidades y el tronco, especialmente en las zonas pilosas. (Gaetano, 2016).

En el **diagnóstico diferencial**, debemos incluir otras patologías que se caracterizan por la presencia localizada o generalizada de escamas, como la foliculitis bacteriana, dermatofitosis, demodicosis, linfoma cutáneo epiteliotropo, los cuadros escamosos secundarios a trastornos metabólicos como el hipotiroidismo, parasitosis externas como cheyletiellosis, y sobre todo la adenitis sebácea idiopática que se caracteriza por la presencia de cilindros foliculares. La forma exfoliativa de la leishmaniosis cutánea puede cursar con lesiones histológicas propias de adenitis sebácea, pero a diferencia de lo que sucede en la adenitis sebácea idiopática, en la leishmaniosis los cilindros no son grasos ni de aspecto marronáceo (Solano Gallego et al., 2013; Vich, 2016).

Para establecer el **diagnóstico** en un perro con lesiones cutáneas escamosas sospechosas de leishmaniosis, realizaremos en primer lugar un examen citológico por impronta de esa superficie erosionada con la finalidad de observar a través del microscopio si existe una inflamación neutrofílica y macrofágica con amastigotes de *Leishmania* (Rios, 2015; Ordeix y Roura, 2020).

Tras la aproximación diagnóstica realizada mediante citología, se deberá realizar un examen histopatológico de biopsias cutáneas (Fig.1C), en las que puede observarse una hiperqueratosis ortoqueratosa, epidérmica y folicular. Las escamas y los cilindros foliculares que se observan en esta forma cutánea de leishmaniosis son el resultado del acúmulo de queratina adherida a la base del tallo del pelo, consecuencia de la hiperqueratosis folicular (Rios, 2015). Además, en la dermis se puede observar un infiltrado inflamatorio neutrofílico que avanza desde la zona perivascular a la zona intersticial de la dermis superficial y/o media (Vich, 2016).

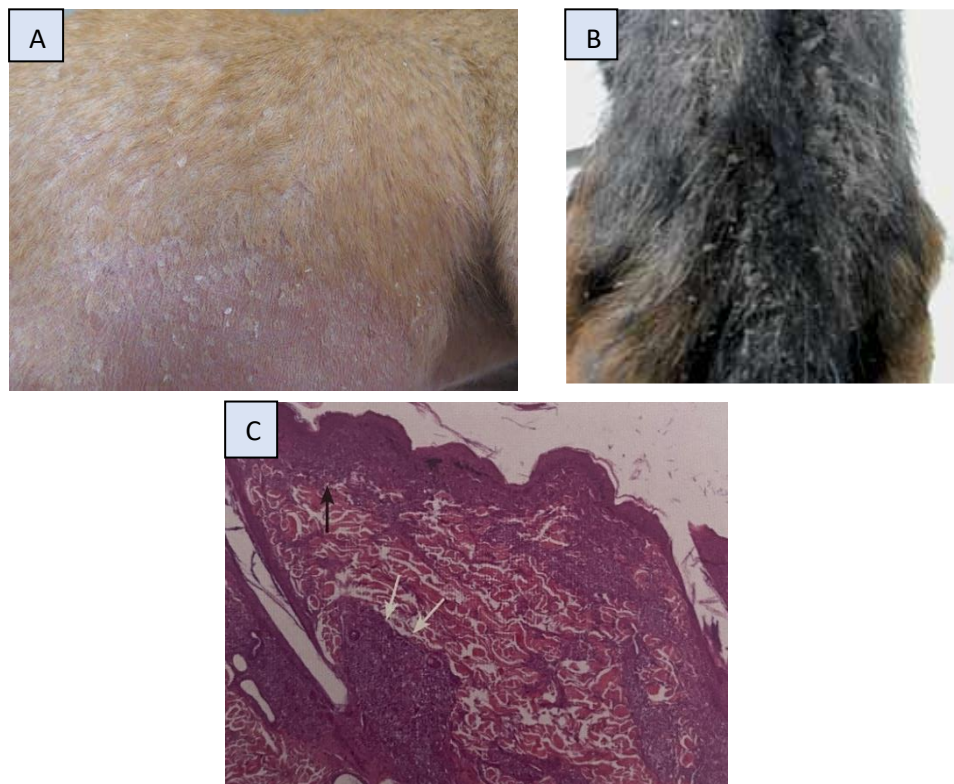


Figura 1: Leishmaniosis canina cutáneas exfoliativa. A) Imagen macroscópica de una dermatitis exfoliativa en la zona dorsal del tronco, con descamación blanquecina (Fuente: Ordeix y Roura, 2020); B) Imagen macroscópica de una dermatitis exfoliativa en la parte distal de una extremidad (Fuente: Verde, 2010); C) Imagen microscópica de una biopsia cutánea donde se observa dermatitis superficial difusa y dermatitis perianexal (Fuente: Solano Gallego et al., 2013).

B. Alteraciones ungueales.

Los **aspectos clínicos** de las alteraciones ungueales se refieren a las alteraciones en la formación y crecimiento de las uñas, siendo una manifestación cutánea frecuente de la leishmaniosis canina. Las variedades de anomalías ungueales que pueden aparecer en leishmaniosis canina incluyen (Rios, 2015; Vich, 2016; Ordeix y Roura, 2020): Onicodistrofia, malformación ungueal (Fig. 2A); Onicomadesis, desprendimiento de la uña (Fig. 2B); Onicosquisis, uña laminada (Fig. 2C); Onicorrexis, uña fisurada o fragmentada (Fig. 2D); Paraniquia, inflamación o infección del lecho ungueal (Fig. 2E) que suele estar menos presente, entre un 6-14% (Koutinas et al.,2010); Onicogriposis, que es un crecimiento exagerado de la uña (Fig. 2F), problema dermatológico típico de la *Leishmania* canina, suele presentarse entre un 24-90% de los casos (Mahmood, 2007; koutinas et al.,2010), se caracteriza por la hipertrofia y una curvatura anormal de las uñas que suele ir acompañado de otros problemas cutáneos como la dermatitis descamativa o la ulcerativa (Ferrer, 2016).

En el **diagnóstico diferencial** de las alteraciones ungueales, al ser un signo tardío, es frecuente que se encuentre acompañada de otra sintomatología previa (Ordeix y Roura, 2020). Cuando el animal presenta únicamente alteraciones ungueales es importante no confundirlo con la onicogriposis del perro geriátrico y la onicodistrofia que se observa tras la resolución de una oniquitis lupoides idiopática (Gaetano, 2016).

Para establecer el **diagnóstico** en un perro se realizará un examen citológico por impronta sobre el pliegue de la piel de la uña, cuando se trata de una inflamación se deberá realizar más pruebas destinadas al diagnóstico de la *Leishmania* como la serología cuantitativa (Villanueva-saz, 2022). Sin embargo, es raro que el diagnóstico se base en un examen dermatológico de las uñas (Solano-Gallego et al., 2013).



Figura 2. Leishmaniosis canina cutánea ungueal. A) Imagen macroscópica de Onicodistrofia. B) Imagen macroscópica de la Onicomadesis. C) Imagen macroscópica de Onicosquiasis. D) Imagen macroscópica de Onicorrexis. E) Imagen macroscópica de Paraniquia. F) Imagen macroscópica de Onicogriposis. (Fuente: Ferrer, 2016; Vich,2016)

C. Dermatitis nodular.

Clínicamente, la dermatitis nodular se caracteriza por la presencia de nódulos múltiples o únicos tanto en la piel (Fig. 3A) como en las mucosas (Ordeix y Roura, 2020). En algunos casos pueden aparecer úlceras con o sin costra en la superficie de la piel. Se trata de una manifestación cutánea de la leishmaniosis con una prevalencia de 2-17% (Vich, 2016) siendo la raza Bóxer una de las más predispuestas (Bardagí, 2012).

Existen al menos dos explicaciones patogénicas respecto a la formación de los nódulos, siendo una de ellas la migración de los amastigotes por vía sanguínea; la otra considera que los nódulos son consecuencia de la inoculación del parásito por parte del flebotomo (Solano-Gallego et al., 2013).

La **localización** más frecuente es la zona facial, la zona periocular, el puente nasal, la cara interna de los pabellones auriculares, la zona perilabial, las extremidades y la trufa (Rios, 2015). Sin embargo, se han descrito en uniones mucocutáneas y mucosas (Viegas et al., 2012).

En el **diagnóstico diferencial**, al tratarse de lesiones nodulares, se deben tener en cuenta otras patologías como son los procesos neoplásicos, calcinosis circunscrita, amiloidosis, dermatitis granulomatosa estéril y los granulomas infecciosos por causas distintas a la leishmaniosis como son las micosis profundas o micobacteriosis (Solano-Gallego et al., 2013; Ordeix y Roura, 2020).

Para establecer el **diagnóstico** en un perro con lesiones nodulares, se realizara un examen citológico mediante impronta y/o por una punción y aspiración con aguja fina (PAAF), observándose la presencia de infiltrado inflamatorio con amastigotes de *Leishmania* (Fig.3B), pero suele recurrirse más al diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímico (Villanueva-Saz, 2022) mediante el uso de biopsias cutáneas (Fig. 3C), donde se observan amastigotes dentro de los macrófagos y otras células del sistema fagocítico mononuclear (Solano-Gallego et al., 2022). Los métodos histológicos son necesarios para mejorar la precisión del diagnóstico de la infección del perro con *Leishmania* (Ferrer, 2016; Sasani, 2016).



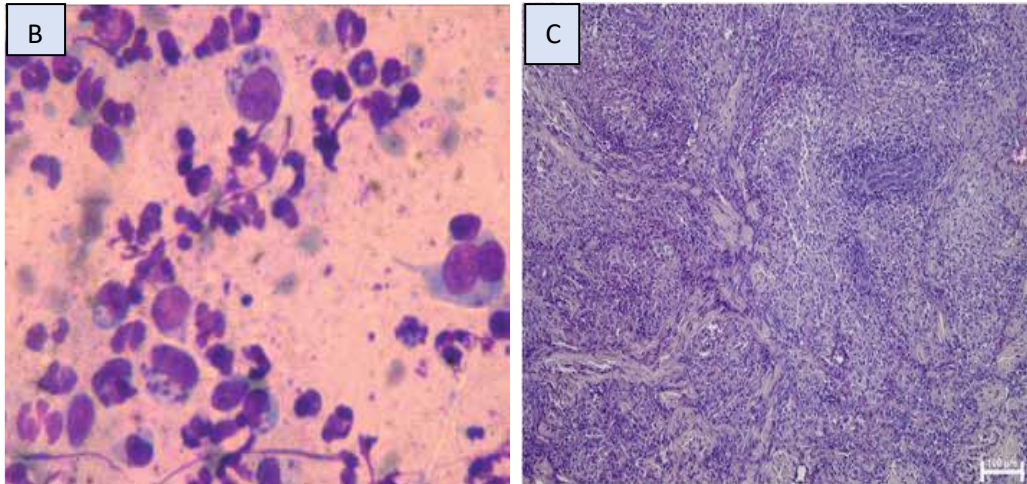


Figura 3. Leishmaniosis canina cutánea nodular. A) Imagen macroscópica de una dermatosis nodular en el pabellón auricular (Fuente: Serveis veterinaris ciutat d'Inca, 2015). B) Imagen citológica nódulos con amastigotes de leishmaniosis (Fuente: Verde, 2010). C) Imagen histológica de una dermatitis nodular a difusa con formación de granuloma en piel clínicamente lesionada de un perro con leishmaniosis en estado I (Fuente: Ordeix et al., 2017).

D. Hiperqueratosis nasodigital.

Es una enfermedad cutánea causada por la hipertrofia del estrato espinoso y la producción excesiva de queratina en estrato córneo, en áreas determinadas como la trufa, puntos de apoyo y en las almohadillas (Romairone, 2016). **Clínicamente** se observa un engrosamiento y endurecimiento de la piel (Fig.4A) que se caracteriza por la presencia de escamas grisáceas, gruesas y secas muy adheridas a la piel (Fig. 4B), las cuales pueden llegar resquebrajarse, causando dolor y favoreciendo infecciones secundarias (Solano-Gallego et al., 2011).

La **localización** más frecuente, suele ser plantar y palmar, llegando a estar afectadas las cuatro extremidades, cursando con dolor y produciendo un particular ruido al caminar. La trufa también puede estar implicada. Esta manifestación clínica se relaciona repetidamente con onicopatías y en especial con onicogriposis (Miller, Griffin y Campebell, 2013).

En el **diagnóstico diferencial**, actualmente, se considera una de las manifestaciones frecuentes, por ello se deben incluir las siguientes patologías: la dermatosis que responde al zinc, la paraqueratosis hereditaria del Labrador Retriever y la hiperqueratosis nasodigital idiopática (siendo más común en geriátricos y en ciertas razas) (Fondati y Ordeix, 2012; Ferrer,2016).

Para establecer el **diagnóstico** en un perro con hiperqueratosis, se puede realizar como primera opción en examen citológico por impronta, observándose una hiperplasia medular mieloide granulocítica con presencia de amastigotes (Gaetano, 2016). Tras la aproximación citológica se puede realizar una histología teniendo como hallazgos histopatológicos una hiperplasia epidérmica con hiperqueratosis (Fig.4C), hipermelanosis epidérmica e incontinencia pigmentaria dérmica (Ferrer, 2016; Villanueva-Saz, 2022).

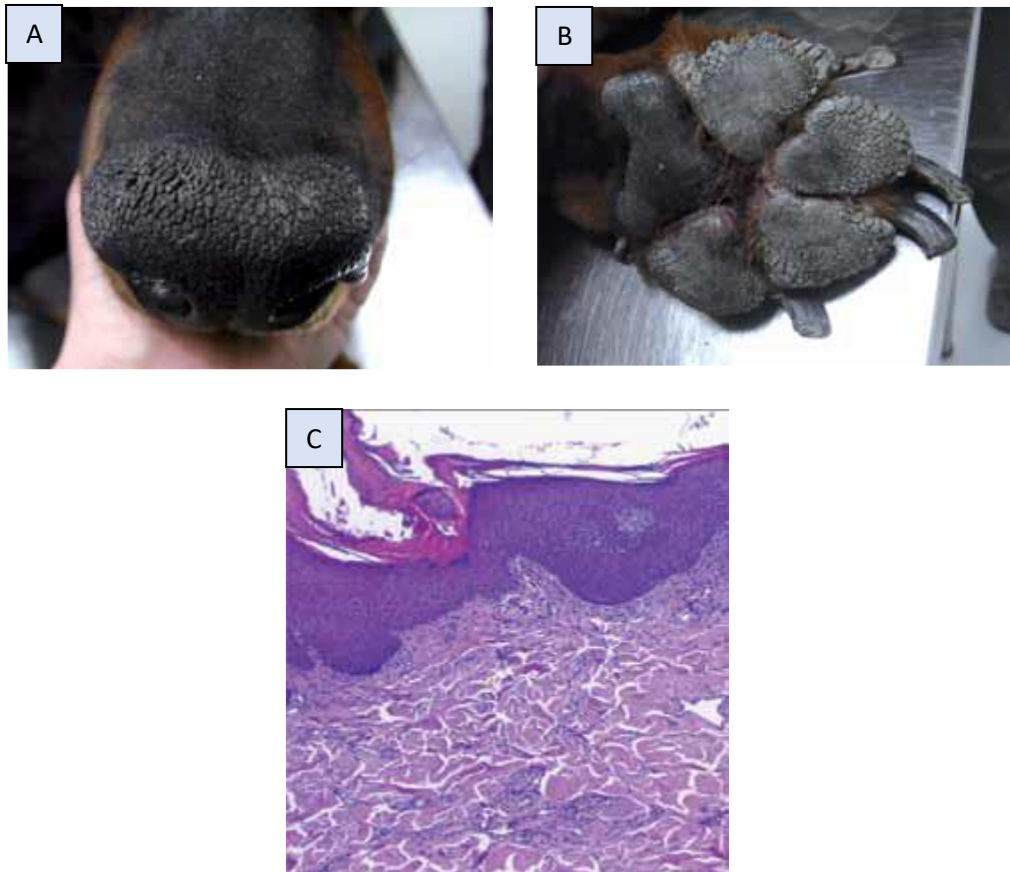


Figura 4. Leishmaniosis canina cutánea, hiperqueratosis nasodigital. A) Imagen macroscópica de una hiperqueratosis nasal. B) Imagen macroscópica de una hiperqueratosis plantar. C) Imagen histológica de la hiperqueratosis (Fuente: Verde, 2010).

E. Dermatopatía isquémica.

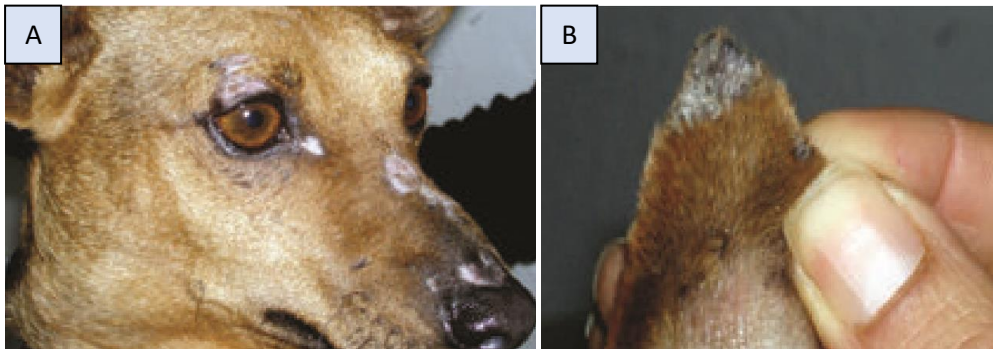
En la especie canina, la vasculitis es una inflamación que afecta específicamente a las paredes de los vasos sanguíneos de pequeño tamaño. Las **lesiones clínicas** suelen manifestarse principalmente en forma de áreas focales de alopecia, con o sin descamación, y úlceras cubiertas por costras hemorrágicas (Fig.5A) (Torres et al., 2011). Como resultado

del depósito de los inmunocomplejos y factores del complemento se genera una vasculitis cutánea secundaria a la leishmaniosis (Ordeix y Roura, 2020).

La **localización** más frecuente, son los cojinetes plantares, puntas de las orejas (Fig.5B), en la trufa, punta de la cola, zonas inguinales, en el lecho ungueal, prominencias óseas y en zonas distales (Sasani, 2016; Sunter y Gull, 2017).

En el **diagnóstico diferencial** se deberán incluir todas las enfermedades asociadas a la presencia de inmunocomplejos circulantes, enfermedades infecciosas sistémicas (como ehrlichiosis o rickettsiosis), enfermedades inmunomediadas (como el lupus eritematoso sistémico) y la reacción de hipersensibilidad por la vacuna u otros fármacos (Solano Gallego et al., 2013; Noli y Saridomichelakis, 2014; Rios, 2015).

Al provocar lesiones consecuencia de la falta de aporte sanguíneo suficiente en los plexos medios y profundos de la piel, **el diagnóstico** requiere un estudio histológico a través de una biopsia. Las lesiones histopatológicas que se observaban más frecuentemente son atrofia folicular y la presencia de colágeno mucinoso de coloración más pálida y grietas en la membrana basal (Fig.5C) (Ferrer, 2016), se deberá confirmar el diagnóstico de leishmaniosis con serología y/o PCR (Noli y Saridomichelakis, 2014; Villanueva-Saz, 2022).



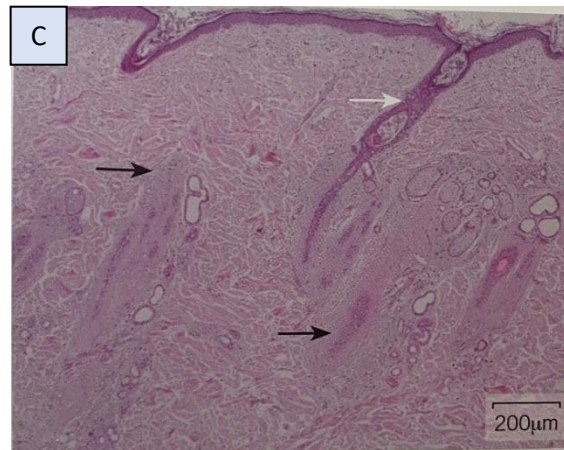


Figura 5. Leishmaniosis canina cutánea isquémica. A) Imagen macroscópica de una Vasculitis-dermatopatía isquémica en las puntas de las orejas (Fuente: Vich ,2016). B) Imagen macroscópica de una vasculitis-dermatopatía isquémica en la zona facial (Fuente: Vich,2016). C) Imagen histopatológica con dermatopatía isquémica de una biopsia de un perro, donde se llega a observar una atrofia folicular señalado con flechas negras y una dermatitis de la unión con vacuolización de los queratinocitos basales señalado con flechas blancas (Solano Gallego et al., 2013).

F. Dermatitis pápulo-pustulosas

Los **aspectos clínicos** de esta forma cutánea están íntimamente relacionados con la situación de inmunodepresión del animal, llegando a presentar pústulas de gran tamaño (Fig.6A). Se consideran afecciones cutáneas benignas (Lombardo et al., 2014). Las pápulas que no aumenten de tamaño suelen ulcerarse en la parte central (6B), adquiriendo una morfología crateriforme característica de la *Leishmania* cutánea (Vich, 2016). La leishmaniosis es una dermatosis no pruriginosa, lo que significa que se debe considerar en cualquier perro con lesiones papulares o nodulares que cursen sin prurito (Esteve et al., 2015).

En las dermatitis pápulo-pustulosas asociadas a la leishmaniosis, las pústulas son con frecuencia generalizadas, se relacionan con pápulas eritematosas y collaretes epidérmicos, y se distribuyen simétricamente por toda la superficie del cuerpo, tanto en las zonas con pelo como en las áreas glabras. Con frecuencia, presentan un halo eritematoso que a veces adquiere una configuración anular o policíclica (Solano-Gallego et al., 2011).

La dermatitis pápular se observa más en perros jóvenes y parece ser una enfermedad leve con una diseminación limitada del parásito y un con un buen pronóstico.

La **localización** más frecuente es la zona ventral, la inguinal, la vulva, párpados, facial, escroto, prepucio, puente nasal, zona interna o cóncava de los pabellones auriculares, espacios interdigitales y en los cojinetes plantares (Bardagí, 2012; Rios, 2015).

Al tratarse de lesiones pápulo-pustulosas, se deben incluir en el **diagnóstico diferencial** otras patologías cutáneas como pioderma superficial (a diferencia de lo descrito las lesiones se centran en los folículos pilosos de forma frecuente, por lo que afecta más a la piel con pelo y la alopecia suele ser prominente), dermatitis pustulosa superficial inmunomediada estéril (como por ejemplo el pénfigo foliáceo, dermatosis neutrofílicas estériles; reacciones medicamentosas pustulosas superficiales y dermatosis pustulosa eosinofílica estéril), reacciones a las picaduras o mordeduras de artrópodos, el granuloma leproide canino, lesiones del síndrome del granuloma/piogranuloma estéril y la histiocitosis cutánea reactiva (Miller, Griffin y Campebell, 2013; Rios, 2015; Ordeix y Roura, 2020).

Para establecer el **diagnóstico** en un perro, la prueba que podemos realizar es un examen citológico por punción con aguja (PAF) sin aspiración, donde se pueden visualizar los amastigotes en el infiltrado inflamatorio (Fig.6C) (Esteve et al., 2013). Para la confirmación del diagnóstico se realizará una biopsia de la pústula intacta (Villanueva-Saz, 2022), observándose en el estudio histológico pústulas subcorneales o intradérmicas, con intensa espongirosis y exocitosis de los neutrófilos, y sin acantólisis (Bardagí, 2012) (Fig.6D). En la dermis se pueden observar amastigotes, pero cabe decir que no en todos los perros se llega a ver los amastigotes en las secciones cutáneas teñidas con H&E (Hematoxilina-Eosina). Como consecuencia se deben utilizar otras técnicas como la IHQ (inmunohistoquímica) o moleculares (Lombardo et al., 2014). La ausencia de bacterias dentro de las pústulas se debe confirmar a través de exámenes citológicos y microbiológicos (Lombardo et al., 2014).

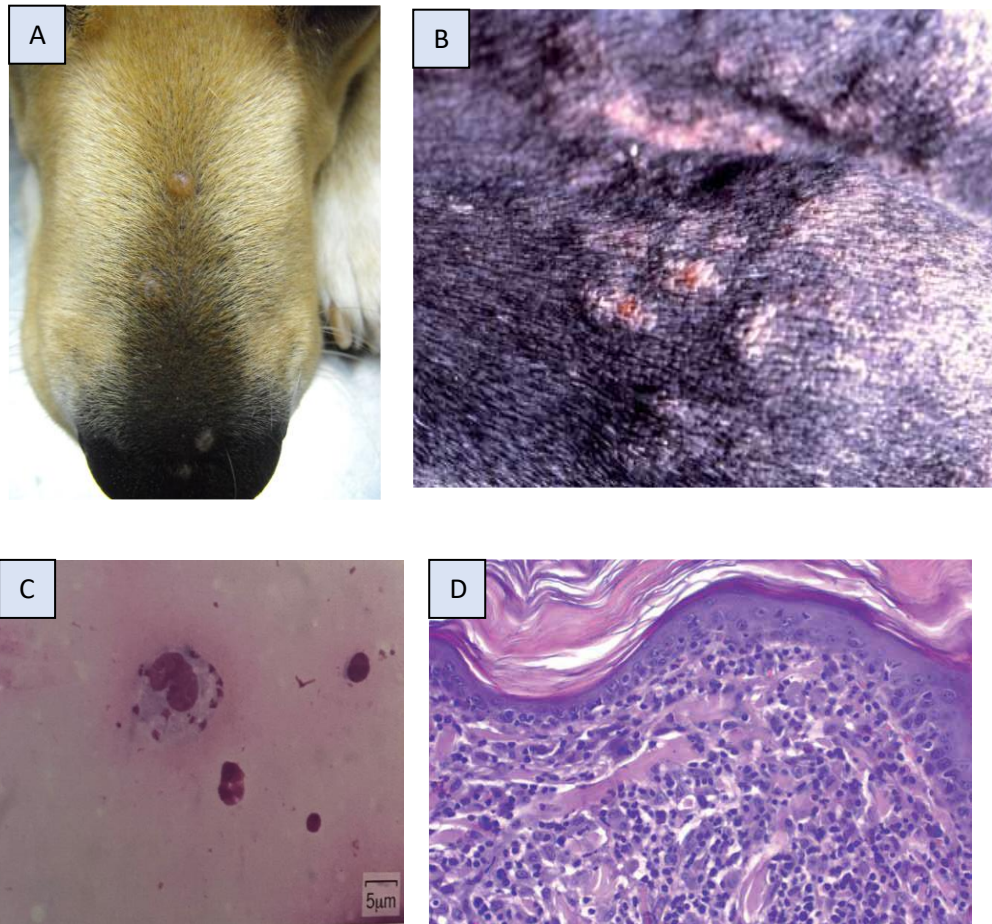


Figura 6. Leishmaniosis canina cutánea pápulo-pustular. A) Imagen macroscópica de una dermatitis pápular múltiple (Fuente: Lombardo et al.,2014). B) Imagen macroscópica de una dermatitis pápulo-pustular estéril en un perro con leishmaniosis canina (Fuente: Verde, 2010). C) Imagen citológica del material obtenido por PAF donde se observa un macrófago con diversos amastigotes de *Leishmania* spp en el citoplasma. Tinción Diff-Quick (Fuente: Solano Gallego et al., 2013). D) Imagen histológica de una biopsia cutánea de un perro con dermatitis difusa granulomatosa (Fuente: Verde, 2010).

G. Dermatitis alopécica.

Los **aspectos clínicos** de la dermatitis alopécica en una leishmaniosis se definen como la pérdida total o parcial de pelo de manera focal o multifocal (Fig.7A). Esta manifestación no es muy común (Ordeix y Roura, 2020). El mecanismo patogénico que las produce es consecuencia de una dermatopatía isquémica debido a que la *Leishmania* produce una gran cantidad de anticuerpos que se unen al antígeno formando inmunocomplejos los cuales se depositan en los vasos sanguíneos generando vasculitis (Villanueva-Saz, 2022).

La **localización** más frecuente, es la región facial, pero puede afectar a toda la superficie corporal (Fig.7B), siendo más frecuente la forma multifocal que la focal (Lombardo et al., 2014).

En el **diagnóstico diferencial**, al tratarse de lesiones alopécicas se deben incluir otras patologías como la foliculitis bacteriana, la demodicosis, dermatofitosis, el hipotiroidismo y la displasia folicular (Sasani, 2016; Solano-Gallego et al.,2013).

Para establecer el **diagnóstico** se puede realizar como primera opción una citología, con la finalidad de observar al microscopio células inflamatorias y amastigotes de *Leishmania* (Ferrer, 2016; Ordeix y Roura, 2020). No obstante, también se puede realizar un examen histopatológico de una biopsia de un perro, donde se observan células inflamatorias con amastigotes y una atrofia folicular (Fig.7C) (Rios, 2015; Sasani, 2016) y por último, análisis clínico-patológicos y serológicos que nos ayudarán a estudiar la situación global del paciente (Verde, 2010).

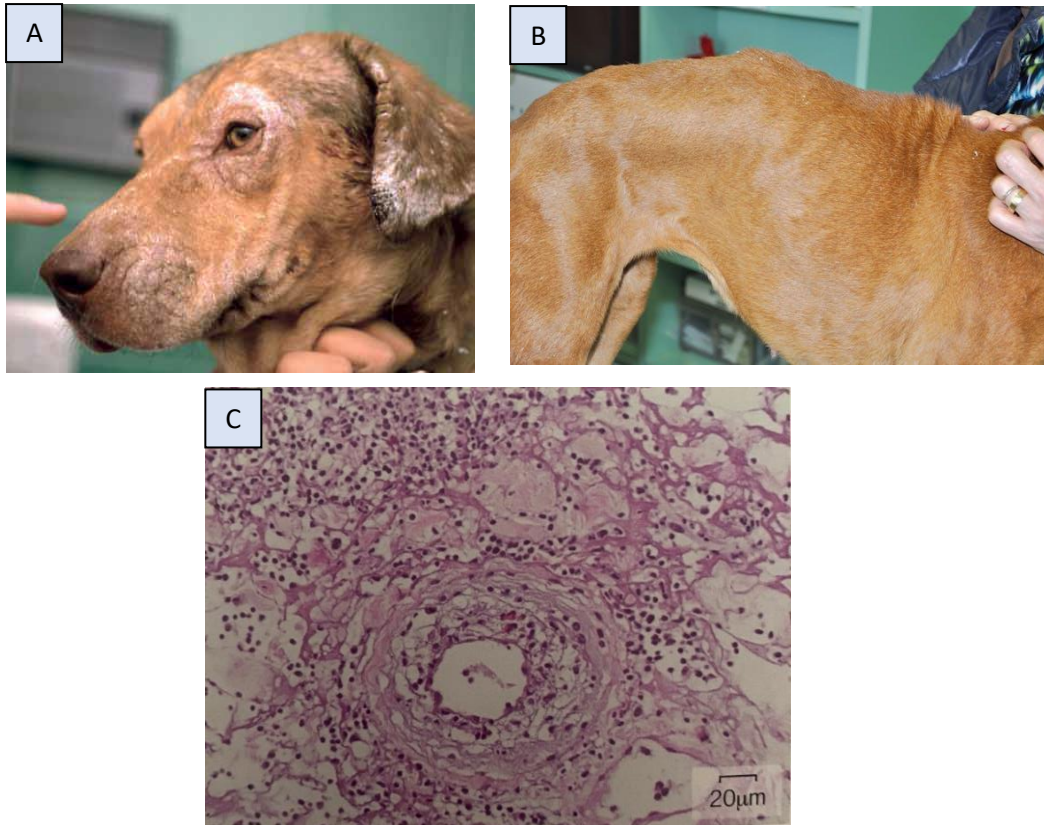


Figura 7. Leishmaniosis canina cutánea alopécica. A) Imagen macroscópica de la región facial de un perro con cuadro alopécico-descamativo (Fuente: Verde, 2010). B) Imagen macroscópica de una dermatitis alopécica en el tronco de un perro (Ordeix y Roura, 2020). C) Imagen histopatológica de vasculitis cutánea, en una biopsia cutánea en la que se observan células inflamatorias en la pared vascular y fibrina perivascular. Tinción H&E, x10 (Fuente: Solano Gallego et al., 2013).

H. Dermatitis erosivas-ulcerativas.

La dermatitis erosiva-ulcerativa se considera la segunda alteración cutánea más común en los casos de leishmaniosis cutánea (Vich, 2016). Los **aspectos clínicos** empiezan con una erosión y van evolucionando hasta que se forma la úlcera bien definida, y es frecuente que aparezca en las prominencias óseas, especialmente en las articulaciones (Fig.8A) (Fondati y Ordeix, 2012). La base necrótica suele estar cubierta de un exudado purulento o con contras hemorrágicas. Suelen ser úlceras persistentes y con bordes netos (Organización Panamericana de la salud, 2019; (Sasani, 2016). Lo más habitual de las úlceras es que sean bilaterales y simétricas, en la gran mayoría de los casos se debe a la presencia de vasculitis o por una pioderma profunda (Solano-Gallego et al., 2013). Se ha formulado la hipótesis de que la presión continua en el punto de apoyo causa una inflamación secundaria que da

lugar, en el perro infectado, al desarrollo de una úlcera. teniendo predisposición los Labrador Retriever, Collie y Rottweiler (Vich, 2016; Ordeix y Roura, 2020).

Se pueden llegar a observar lesiones de tipo lupus denominadas dermatitis del plano nasal, con erosiones, úlceras y costras con despigmentación (rosado-grisáceo) en la base de la trufa en contacto con el puente nasal (Fig.8B) que presentan una leve tumefacción, con pérdida de estructura (Bardagi, 2012; Vich, 2016; Sasani, 2016).

Otros tipos de lesiones pueden llegar a localizarse en las uniones mucocutáneas, observándose erosiones y úlceras que suelen ir acompañadas por escamas y costras en especial en los pliegues alares. Las lesiones provocan una despigmentación donde es más evidente con pieles pigmentadas (Fig.8C) y no suelen provocar prurito, aunque pueden ser dolorosas dependiendo de la profundidad y extensión (Solano-Gallego et al., 2013; Ordeix y Roura, 2020).

Otro tipo de manifestación es la que imita al pénfigo (pénfigo-like) ya que no se trata de un pénfigo real dado que desaparece una vez tratada la leishmaniosis. Al estar afectado el sistema inmunitario puede llegar a confundirse con un pénfigo foliáceo primario ya que el cuadro clínico es muy similar, suele presentarse con costras, úlceras, despigmentación y pústulas (Fig.8D) (Solano Gallego et al., 2013; Rios, 2015; Sasani, 2016; Ordeix y Roura, 2020).

Las **localizaciones** más frecuentes son los salientes óseos como el carpo, codos, tarsos, tobillos, rodillas y caderas (Ordeix y Roura, 2020). Las lesiones de tipo lupus, se localizan en el plano nasal. Asimismo, se pueden localizar en las uniones mucocutáneas como los ojos, plano nasal, labios, prepucio, ano y vulva (De lucia et al., 2013).

Al tratarse de un cuadro erosivo-ulcerativo, se deberían incluir en el **diagnóstico diferencial** patologías como la pioderma profunda localizada, las neoplasias y el granuloma infeccioso (como una micosis profunda, o una micobacteriosis) (Sasani, 2016; Vich, 2016; Solano-Gallego et al., 2022).

En el **diagnóstico diferencial de las lesiones de tipo lupus** se incluye el linfoma cutáneo epiteliotropo, el síndrome uveodermatológico y el lupus eritematoso discoide (LED). En el caso del LED, puede servir de indicador el hecho de que el primer sitio donde aparece la despigmentación es en la zona dorsal del plano nasal (Fondati y Ordeix, 2012; De Lucia et al., 2013). Para poder establecer el diagnóstico definitivo será necesaria una biopsia cutánea

En el **diagnóstico diferencial de las uniones mucocutáneas** se incluye la pioderma mucocutánea (suele localizarse en la zona facial) y el lupus eritematoso (se suele presentar en las zonas anales y genitales) ambas causan erosiones y úlceras en las uniones mucocutáneas (Miller, Griffin y Campebell,2013). Otras patologías menos frecuentes a tener en cuenta en el diagnóstico diferencia son las reacciones adversas a los medicamentos, el linfoma cutáneo epitelio trofo, el pénfigo paraneoplásico y la dermatosis bullosa subepidérmicas (Ferrer, 2016; Ordeix y Roura, 2020).

Para establecer el **diagnóstico definitivo**, si aparecen lesiones erosivas-ulcerosas, se puede realizar como primera opción un examen citológico por raspado de los márgenes de la úlcera nunca del centro ya que hay necrosis, o haciendo una impronta de la úlcera o de la zona erosionada (Miller, Griffin y Campebell, 2013). Por otra parte, se puede realizar un examen histopatológico por medio de la toma de una biopsia cutánea observándose células inflamatorias con infiltrado de macrófagos, células plasmáticas y amastigotes (Fig.9) (Villanueva-Saz, 2022). Y, por último, también se deberán realizar las pruebas serológicas destinadas al diagnóstico de la leishmaniosis (Ordeix y Roura, 2020).



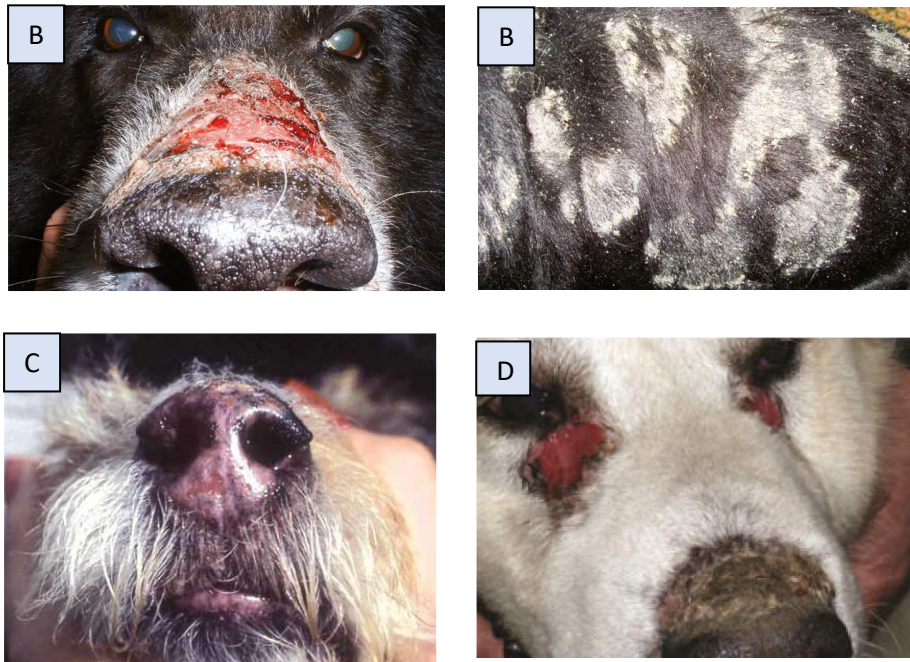


Figura 8. Leishmaniosis canina cutáneas ulcerativa. A) Imagen macroscópica de úlceras en los salientes óseos (Fuente: Verde, 2010). B) Imágenes macroscópica de las lesiones erosivo-ulcerativo de tipo lupus (Fuente: Machicote, 2021). C) Imagen macroscópica de un perro con hipopigmentación (asociada o no a ulceración) en trufa y/o uniones mucocutáneas (Fuente: Verde, 2010). D) Imagen macroscópica del Pénfigo like en el lagrimal y trufa. (Fuente: Ferrer et al.,2016).

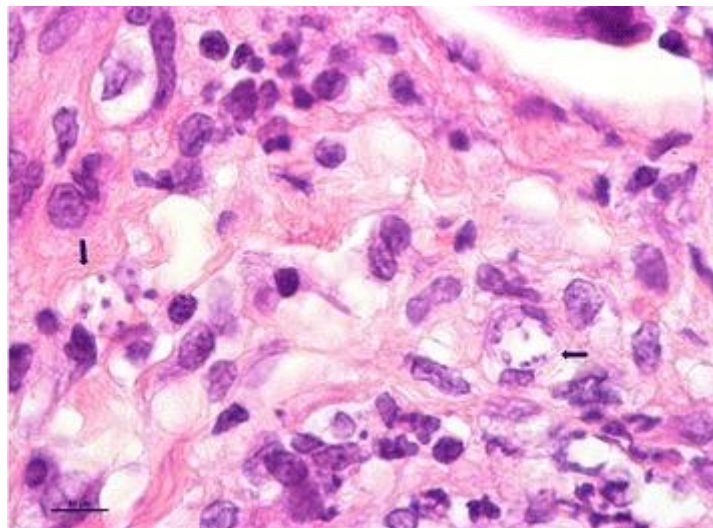


Figura 9. Leishmaniosis canina cutáneas ulcerativas. Imagen histológica de una lesión cutánea localizada en el hocico. Las flechas señalan grupos de *Leishmania* spp. redondos u ovalados, amastigotes con pequeños núcleos basófilos en el citoplasma de los macrófagos. Tinción H&E (Fuente: Baneth et al., 2016).

5.3. Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la valoración del historial clínico, en los signos clínicos compatibles, en las anomalías clínico-patológicas, en la exclusión de diagnósticos diferenciales importantes, en la demostración de la infección (citología) y en la demostración de la presencia *Leishmania* específica (Noli y Saridomichelakis, 2014; Ferrer, 2016). Por ello es necesario abordar el diagnóstico de cada caso de forma individual. Para confirmar la enfermedad existen varios métodos de diagnósticos que se pueden emplear para la detección en cada una de las formas cutáneas de la leishmaniosis.

Disponemos de pruebas laboratoriales indirectas (serológicas) que nos permiten confirmar la presencia de anticuerpos antileishmania y, también pruebas directas mediante PCR en tiempo real, en diferentes muestras de tejidos, que nos permiten valorar la presencia del agente *Leishmania* spp. Asimismo, hay estudios que indican que tipo de prueba utilizar en función de la fase en la que se encuentre la infección, pero, en general, se recomienda hacer varias técnicas conjuntas para evitar los falsos negativos (Noli y Saridomichelakis, 2014; Organización panamericana de la salud, 2019).

En resumen, las pruebas a las que podemos recurrir para el diagnóstico de la leishmaniosis cutánea son la citología de lesiones cutáneas, la histopatología (biopsia cutánea), la inmunohistoquímica, los test serológicos rápidos semicuantitativos basado en técnicas de inmunomigración, la serología IFI o ELISA y el PCR (Galán et al., 2022).

Métodos de diagnóstico directo

Este método se fundamenta en la detección directa del parásito o de su ADN utilizando las tinciones de Giemsa, de Wright u otras (Noli y Saridomichelakis, 2014). Los amastigotes de *Leishmania* son parásitos ovalados, con un núcleo redondo basofílico y un pequeño cinetoplasto parecido a un bastón. Generalmente se encuentran en macrófagos o liberados de células dañadas. Los métodos parasitológicos consisten en hacer una citología, histología, inmunohistoquímica o un cultivo para el diagnóstico de la leishmaniosis canina cutánea (Ordeix y Roura, 2020; Solano-Gallego et al., 2022).

- Citología: En este tipo de método se trata de identificar los amastigotes de *Leishmania* a través del microscopio. Se realiza mediante un frotis con una tinción convencional por medio de raspados, aspirados o biopsias de lesiones cutáneas (Sasami, 2016).

- Histopatología e inmunohistoquímica: Los métodos histopatológicos son necesarios para mejorar la precisión del diagnóstico. Después de la evaluación histológica, para poder verificar el diagnóstico se deberán realizar técnicas inmunohistoquímicas y/o técnicas moleculares (PCR) (Solano-Gallego et al., 2022).

La ventaja de este método es que es económico y tiene una alta especificidad lo que implica que si se observa una célula parasitada el resultado será positivo. No obstante, la desventaja es la baja sensibilidad que implica tener falsos negativos por lo que no se podrá descartar la infección, aunque el resultado sea negativo. Y por este motivo es importante tomar varias muestras y complementarlas con otras pruebas para poder confirmar el diagnóstico en animales sospechosos sobre todo en zonas endémicas (Miró, 2007; Machicote, 2021).

Métodos moleculares

La reacción en la cadena de la polimerasa (PCR) se basa en la amplificación de fracciones del ADN y es la técnica más importante para el diagnóstico de la leishmaniosis canina (Solano-Gallego et al., 2011). La muestra puede tener distintos orígenes, pero en el caso de las manifestaciones cutáneas de la *Leishmania* el órgano a muestrear es la piel mediante una biopsia (Solano-Gallego et al., 2009). La PCR es un método de confirmación.

La PCR se caracteriza por la alta sensibilidad y especificidad del 100% para identificar el ADN de *Leishmania* spp. Esto significa que con la aparición de un solo amastigote en la muestra, esta será positiva; lo que aporta un diagnóstico definitivo. Asimismo, al tener mayor sensibilidad y especificidad que las pruebas serológicas, la PCR es la prueba más precisa para identificar la mínima cantidad de ADN de *Leishmania* en muestras de animales. Pero el problema es que en zonas endémicas prácticamente todos los perros han podido estar en contacto con el parásito, lo que no significa que todos estén enfermos. Por tanto, dando resultados positivos tanto en los perros sintomáticos como en los asintomáticos (Lombardo et al., 2014).

Métodos de diagnóstico indirecto (Serología)

Los métodos indirectos se basan en pruebas inmunológicas que permiten evaluar la respuesta inmunitaria del paciente, tanto celular como humoral, y así detectar de forma sencilla la infección y la enfermedad. Principalmente las pruebas IFI o ELISA, son utilizadas para determinar la tasa de anticuerpos, que sería una medida indirecta del grado de enfermedad

(Saridomichelakis y Koutinas, 2014; Ferrer, 2016). Un título de rango alto es indicativo de enfermedad, pero un título de rango bajo es indicativo de infección, aunque no de enfermedad. Por ello, hay que interpretar los resultados junto con el resto de los hallazgos clínicos. Se trata de un título de rango bajo cuando supera de 1 a 2 veces el punto corte, y un título de rango alto cuando supera 3-4 veces el punto de corte. (Lombardo et al., 2014).

Estas técnicas son esenciales para diagnosticar infecciones tempranas, identificar el estadio clínico de la enfermedad, monitorizar la evolución de los animales infectados y llevar a cabo el seguimiento del paciente tras el tratamiento (Dantas-Torres et al., 2012).

5.4. Tratamiento

Antes de iniciar el tratamiento de una patología crónica como es la leishmaniosis, es importante recordar al propietario que se trata de un proceso largo, que tiene un alto valor económico y que muchas veces no llega a la curación total del paciente. Es importante asegurarse del diagnóstico antes de iniciar el tratamiento. Solo se tratará a los perros con signos clínicos y que sean positivos dentro de un determinado rango de anticuerpos y se deberá escoger el protocolo más adecuado, dosis, vía de administración y duración para cada animal y, además, monitorizar la evolución del perro durante el tratamiento (Solano-Gallego et al., 2009).

El tratamiento se basa en la combinación de antimonio de metilglucamina con alopurinol o de miltefosina con alopurinol. Sin embargo, el seguimiento y la retirada del tratamiento se hará en función de la normalización del proteinograma y la negativización de los títulos de anticuerpos valorados mediante serología (Verde, 2010).

Miltefosina (Milteforan®)

Esta molécula actúa bloqueando la actividad de las vías de señales y de la síntesis de la membrana celular del parásito, lo que provoca su muerte, observándose una rápida mejoría clínica (Ferrer y Roura, 2011). Las dosis efectivas son de 2mg/kg cada 24h durante 28 días por vía oral y se debe utilizar en combinación con alopurinol 10-15mg cada 12h (Verde, 2010). Sin embargo, la miltefosina no llega a eliminar totalmente el parásito de los animales infectados, aunque se ha notado una reducción en la carga parasitaria en los ganglios linfáticos. (Gaetano et al., 2010).

Sales antimoniales- N-metilglucamina (Glucantime®/Antishmania®)

Las sales antimoniales de meglucamina son el tratamiento más utilizado ya que proporcionan buenos resultados, aunque, al igual que la miltefosina, no siempre llegan a reducir totalmente la carga parasitaria. La dosis y la frecuencia en perros de 50mg/kg cada 12h durante 30-45 días por vía subcutánea (Verde, 2010). Es un fármaco parasiticida, produciendo la muerte del parásito por medio de una inhibición de la fosfofructoquinasa (inhibiendo la glucólisis y el ciclo de Krebs), y de la topoisomerasa (bloqueando la replicación del ADN) (Ferrer y Roura, 2011).

Alopurinol

El alopurinol es una pirazolopirimidina que se utiliza como tratamiento único y como un tratamiento coadyuvante de mitelfosina y de antimonio de metilglucamina. Las ventajas de este tratamiento es su bajo coste y que tiene pocos efectos secundarios. La desventaja es que se trata de un fármaco parasitostático (Noli y Saridomichelakis, 2014). Es una molécula análoga a las bases púricas y su mecanismo de acción consiste en alterar la síntesis proteica de la *Leishmania*. La dosis recomendada es de 10-15mg/kg cada 12h hasta que los títulos de anticuerpo antileishmania se hallen por debajo del dintel considerado negativo (Ferrer y Roura, 2011).

Para concluir, la búsqueda de nuevas terapias para la leishmaniosis debe tener como propósito la mejoría de los signos clínicos, de las alteraciones clínico-patológicas y del estado inmunitario de los pacientes, además de la reducción de la carga parasitaria y, por lo tanto, el descenso de la infectividad hacia los flebótomos. Por ello, la combinación de fármacos que permiten controlar la enfermedad y su progresión en los pacientes es la estrategia más adecuada (Llano et al., 2020).

6. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la información obtenida a lo largo de la revisión bibliográfica realizada, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La leishmaniosis canina (LC) producida por *L. infantum* spp y transmitida en la cuenca mediterránea por picaduras de flebótomos, es una enfermedad muy frecuente en la clínica canina.
- La LC puede afectar a cualquier sistema orgánico, pero la sintomatología cutánea es la más frecuente, pudiendo manifestarse a través de una gran variedad de síntomas y cuadros clínicos.

- El tipo de lesiones cutáneas dependerá del/los procesos patogénicos implicados en el desarrollo de la enfermedad que son muy variables: desde una reacción granulomatosa en el punto de inoculación de los amastigotes, al depósito de inmunocomplejos circulantes o reacciones de tipo vasculitis.
- Las lesiones en la piel son muy frecuentes en la leishmaniosis canina, estando presentes en un 80% de los casos y manifestándose a través de diversos patrones clínicos cutáneos.
- Los patrones clínicos cutáneos de leishmaniosis descritos hasta la fecha son: dermatitis exfoliativa, alteraciones ungueales, dermatitis nodulares, hiperqueratosis nasodigital, dermatopatías isquémicas, dermatitis pápulo-pustulosas, dermatitis alopécicas, dermatitis erosivas- ulcerativas.
- Cada patrón clínico cutáneo se acompaña de un listado de otras causas que dan la misma sintomatología que la leishmaniosis, por lo que se debe establecer un adecuado protocolo de diagnóstico adaptado a cada caso.
- La citología por impresión o por aspiración con aguja fina y los estudios histopatológicos de las biopsias cutáneas permiten caracterizar el tipo de reacción inflamatoria implicada en el proceso, en la que predominan macrófagos, seguidos de linfocitos y células plasmáticas; así como visualizar los amastigotes.

CONCLUSIONS

On the basis of the information obtained during the literature review, the following conclusions have been reached:

- Canine leishmaniasis (CL), caused by *L. infantum* spp. and transmitted in the Mediterranean basin by sandfly bites, is a very frequent disease in canine clinics.
- LC can affect any organ system, but cutaneous symptomatology is the most common, and can manifest itself through a wide variety of symptoms and clinical pictures.
- The type of skin lesions will depend on the pathogenic process(es) involved in the development of the disease, which are highly variable: from a granulomatous reaction at the site of inoculation of the amastigotes, to the deposition of circulating immunocomplexes or vasculitis-type reactions.
- Skin lesions are very frequent in canine leishmaniasis, being present in 80% of cases and manifesting themselves through various cutaneous clinical patterns.
- The cutaneous clinical patterns of leishmaniasis described to date are exfoliative dermatitis, nail changes, nodular dermatitis, nasodigital hyperkeratosis, ischaemic

dermatopathies, papulo-pustular dermatitis, alopecic dermatitis, erosive-ulcerative dermatitis.

- Each cutaneous clinical pattern is accompanied by a list of other causes that give the same symptomatology as leishmaniasis, so an appropriate diagnostic protocol adapted to each case must be established.
- Impression cytology or fine needle aspiration cytology and histopathological studies of skin biopsies allow characterisation of the type of inflammatory reaction involved in the process, in which macrophages predominate, followed by lymphocytes and plasma cells, as well as visualisation of amastigotes.

7. VALORACIÓN PERSONAL

Tras la revisión bibliográfica soy consenciente de la gran importancia de la leishmaniosis canina en la clínica. Gracias a este trabajo final de grado he adquirido los conocimientos necesarios y actualizados para poder hacerle frente en un futuro a la aparición de esta enfermedad, así como cada manifestación cutánea adquiriendo conocimientos frente a otras patologías para hacer exclusión de diagnósticos diferenciales importantes, los diferentes procesos patogénicos, las distintas técnicas diagnóstica y las nuevas terapias para la leishmaniosis canina. También me he dado cuenta del valor de disponer de unos buenos referentes bibliográficos y de autores puestos en valor a través de sus publicaciones recocidas.

Por último, agradecer a Maite Verde y a Sergio Villanueva por su acompañamiento e interés por ayudarme en la elaboración de mi trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Antoniou, M., Gramiccia, M., Molina, R., Dvorak, V. and Volf, P. (2013). "The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region". *Eurosurveillance*, 18, 20540.
2. Bardagi, M. (2012). "Canina leishmaniosis: the challenge of histopathological diagnosis. In: proceedings of the international society of veterinary dermatopathology". *Pre-congress day of the 7th world congress of veterinary dermatology. Vancouver, 24-28 Julio 2012*. pp. 22-30.
3. Baneth, G., Nachum-Biala, Y., Shabat Simon, M., Brenner, O., Gaier, S., Rojas, A., & Yasur-Landau, D. (2016). "Leishmania major infection in a dog with cutaneous manifestations". *Parasites & vectors*, 9(1), 246. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1541-2>.
4. Baneth, G., Solano-Gallego, L. (2022). "Veterinary Clinics of North America: *Small Animal practice*. Elsevier Inc. 52(6), pp. 1359-1375. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561622000870?via%3Dihub> [Consultado 03/11/2023].
5. Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V.M., de Paiva-Cavalcanti, M. and Otranto, D. (2012). "Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences". *Trends in parasitology*, 28 (12), pp. 531-538.
6. De lucia, M., Mezzalira, G., Baldassarre, V., Fondevila, D., Bardagi, M., Fondati, A. (2013). "Canine nasal dermatitis: histopathological and immunopathological features of discoid lupus erythematosus and leishmaniosis". *26th Proceedings of the annual congress of the ESVD-ECVD*. Valencia, 19-21 September 2013.
7. Encinas Aragón, J., Fernández Gómez, F., Lasheras Carbajo, M., & Barbas del Buey, F. (2006) "Leishmaniosis canina y humana: una visión de conjunto". *Profesión veterinaria*, 16 (63), pp. 28-33.
8. Esteve, L. O., Saz, S. V., Hosein, S., & Solano-Gallego, L. (2015). "Histopathological findings and detection of Toll-like receptor 2 in cutaneous lesions of canine leishmaniosis." *Veterinary parasitology*, 209(3-4), 157–163.
9. Ferrer, L., Roura, X. (2011). "Tratamiento de la leishmaniosis canina". *Portal veterinaria*, 31 de enero. Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/21534/tratamiento-de-la-leishmaniosis-canina.html> [consultado 07/04/2023].

10. Ferrer, L., Roura, X. (2011). "Mecanismos patogénicos en la leishmaniosis canina". *Portal veterinaria*. 22 de julio. Disponible en: [Mecanismos patogénicos en la leishmaniosis canina | PortalVeterinaria](#) [Consultado 06/09/2023].
11. Ferrer, L. (2016). Prólogo. En: Magrinyà, O. *La leishmaniosis canina, una visión práctica*. Barcelona: EDICIONES S. pp. 27-72.
12. Fondati, A., Ordeix L. (2012). "Malattie del planum nasale." In: de Lorenzi D (Ed): *Malattie dell'apparato respiratorio nel cane e nel gatto*. Milano, Italia: Elsevier, pp. 170-175.
13. Gaetano, O. (2016). *La leishmaniosis canina, una visión práctica*. En: Magrinyà, O. *La leishmaniosis canina, una visión práctica*. Barcelona: EDICIONES S. pp. 39-50.
14. Galán-Relaño, Á., Maldonado, A., Gómez-Gascón, L., Tarradas, C., Astorga, R. J., Luque, I., & Huerta, B. (2022). "Pre-test probability and likelihood ratios for clinical findings in canine leishmaniasis". *Transboundary and emerging diseases*, 69(6), pp. 3540–3547. <https://doi.org/10.1111/tbed.14717>
15. Gradoni, L. (2015). "Canine Leishmania vaccines: still a long way to go". *Veterinary parasitology*, 208(1-2), pp. 94-100.
16. Kaszak, I., Planellas, M., Dworecka-Kaszak B. (2015). "Canine leishmaniosis- an emerging disease". *Annals of parasitology*, 61(2), pp. 69-76.
17. Koutinas, A. F., Carlotti, D.N., Papadogiannakis, E.I., Spanakos, G.K., Saridomichelakis, M.N. (2010). "Claw histopathology and parasitic load in natural cases of canine leishmaniosis associated with *Leishmania infantum*". *Vet. Dermatol.* 2(1), pp. 572-577.
18. Koutinas, A. F., & Koutinas, C. K. (2014). "Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*". *Veterinary pathology*. 51(2), pp. 527–538.
19. Lombardo, G., Pennisi, M.G, Lupo, T., Chicharro, C., & Solano-Gallego, L. (2014). "Papular dermatitis due to *Leishmania infantum* infection in seventeen dogs: diagnostic features, extent of the infection and treatment outcome". *Parasites & Vectors*, 7, pp. 120.
20. Llano, E., Maidana, H., Báez, A., Cabrera, W., & Benítez, J. (2020). "Allopurinol y domperidona en el tratamiento de leishmaniosis visceral canina". *Revista Veterinaria*, 31(1), pp. 20-27.
21. Mahmood, K. (2007). "An unusual paronychia. Diagnosis: paronychia cutaneous leishmaniosis". *C. Exp. Dermatol.* 32 (5), pp. 2-611.

22. Machicote, G.G. (2021). Dermatosis víricas, por protozoarios y por algas: En Machicote, G.G. *Atlas de dermatología canina y felina* (2th edición). Zaragoza: Servet Editorial, pp. 107-119.
23. Miller, W.H., Griffin, C.E., Campebell, K.L. (2013). "Discoid lupus erythematosus." In: *Muller & Kirk's small animal dermatology*. (7th editions). Elsevier mosby, St. Louis, pp. 459-460.
24. Miró Corrales, G. (2007). "Leishmaniosis canina: situación actual en Europa, diagnóstico y control". *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(2), pp. 227-229.
25. Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., & Solano-Gallego, L. (2017). "Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniosis". *Trends in Parasitology*, 33(9), pp. 718-730.
26. Noli, C., & Saridomichelakis, M. N. (2014). "An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*)". *Veterinary journal* (London, England: 1997), 202(3), pp. 425-435. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.002>
27. Ordeix, L., Dalmau, A., Osso, M., Llull, J., Montserrat-Sangrà, S., & Solano-Gallego, L. (2017). "Histological and parasitological distinctive findings in clinically lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis". *Parasites & vectors*, 10(1), pp. 121. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2051-6>
28. Ordeix, L.; Montserrat-Sangrà, S.; Martínez-Orellana, P.; Baxarias, M.; Solano-Gallego, L. (2019) Toll-like Receptors 2, 4 and 7, Interferon- Gamma and Interleukin 10, and Programmed Death Ligand 1 Transcripts in Skin from Dogs of Different Clinical Stages of Leishmaniosis. *Parasites & vectors*, 12(1), pp. 575.
29. Organización Panamericana de la Salud (2019). Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas. Washington D.C.: OPS. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50524/9789275320631_spa.pdf [Consultado 11/09/2023].
30. Ordeix, L., y Roura, X. (2020). "Manifestaciones dermatológicas de la leishmaniosis canina". *Veterinary focus*, 28(1). Disponible en: <https://vetfocus.royalcanin.com/es/cientifico/manifestaciones-dermatologicas-de-la-leishmaniosis-canina> [consultado 28/08/2023].
31. Papadogiannakis, E. I., & Koutinas, A. F. (2015). "Cutaneous immune mechanisms in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*". *Veterinary immunology and*

- immunopathology*, 163(3-4), pp. 94–102.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.011>
32. Pennisi, M.G. (2015). “Leishmaniosis of companion animals in Europe: An update”. *Veterinary Parasitology*, 208 (1-2), pp. 35-47.
33. Rios, A.B. (2015). “Patrones cutáneos en la leishmaniosis canina”. *Centro veterinario*, 28 de febrero. Disponible en: <https://docplayer.es/82296032-Patrones-cutaneos-en-la-leishmaniosis-canina.html> [consultado 29/08/2023].
34. Romairone, A. (2016). “Hiperqueratosis nasal en el perro”. *Diagnosticoveterinario.com*. [Blog]. 9 de febrero. Disponible en: https://www.diagnosticoveterinario.com/hiperqueratosis-nasal-en-el-perro/3593?utm_content=cmp-true [consultado: 29-08-23].
35. Saridomichelakis, M.N., & Koutinas, A.F. (2014). “Cutaneous involvement in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*)”. *Veterinary dermatology*, 25(2), pp. 61–e22.
36. Sasani, F., Javanbakht, J., Samani, R., & Shirani, D. (2016). “Canine cutaneous leishmaniasis”. *Journal of parasitic diseases: official organ of the Indian Society for Parasitology*, 40(1), pp. 57–60. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0444-4>
37. Serveis Veterinaris ciutat d`inca. (2015). “La leishmaniosis canina”. *Serveis Veterinaris ciutat d`inca* [Blog]. 24 de mayo. Disponible en: <http://veterinarioinca.com/la-leishmaniosis-canina/> [consultado 25-08-2023].
38. Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., & Etal. (2009). “Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis”. *Veterinary Parasitology*, 165(1-2), pp. 1-18.
39. Solano-Gallego, L., Miro, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2011). “Leishvet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis”. *Parasites & vectors*, 4, pp. 86.
40. Solano-Gallego L., Miró Corrales, G., Villanueva Saz, S., Cardoso, L., Ordeix i Esteve, L., Fondati, A., Peña Giménez, M., Leiva Repiso, M., Naranjo Freixa, C., Dantas-Torres, F., Otranto, D., Pennisi, M.G. (2013). Manifestaciones clínicas cutáneas. En: *Leishmaniosis. Una revisión actualizada. Zaragoza: Grupo Asís Biomedica S.L.*, 8, pp. 151-164.
41. Solano-Gallego, L., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G., Petersen, C. & The LeishVet Group (2022). *Manejo práctico de la leishmaniosis canina y felina*. Disponible en: <https://www.leishvet.org/wp->

<content/uploads/2023/01/ALIVE-dec22-web-ES.pdf>. [consultado el 11/08/2023]

42. Sunter, J., & Gull, K. (2017). "Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding". *Open Biology*, 7(9), 170165. DOI: 10.1098/rsob.170165.
43. Torres, M., Bardagi, M., Roura, X., Zanna, G., Ravera, I., Ferrer, L. (2011). "Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol". *Veterinary Journal*. 188(3), pp. 346-351.
44. Verde, M. (2010). "Leishmaniosis". *Argos*. Número especial octubre 2010. pp. 1-40.
45. Verde, M (2018). *Diagnostico Dermatológico a partir de patrones clínicos en perros y gatos*. Ed. Elsevier.
46. Villanueva-Saz, S (2022). *Leishmaniosis y dermatología veterinaria*. Disponible en: <https://fatroiberica.es/sabermas/leishmaniosis-y-dermatologia-veterinaria/> [consultado: 28-02-2023].
47. Vich, C. (2016). *La leishmaniosis canina, una visión práctica*. En: Magrinyà, O. *La leishmaniosis canina, una visión práctica*. Barcelona: EDICIONES S. pp. 113-123.
48. Viegas, C., Requicha, J., Albuquerque, C., Sargo, T., Machado, J. (2012). "Tongue nodules in canine leishmaniosis- a case report". *Parasites & vectors*. 5, 120.