



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Medicina Canina y Felina

Determinación de *Leishmania spp.* en perros (*Canis Lupus Familiaris*) residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Medicina Canina y Felina

Autor:

Oscar Daniel Vargas Cano

CI: 1714109210

Correo electrónico: oscarvargascano@gmail.com

Directora:

Dra.MSc.Esp Verónica Alexandra Pareja Mena

CI: 1713390308

Cuenca, Ecuador

30-septiembre-2021



## RESUMEN

La Leishmaniasis es una enfermedad de salud pública por su nivel de zoonosis, distribuida a nivel mundial incluyendo nuestro país. Esta enfermedad afecta tanto a los seres humanos como a los animales silvestres y domésticos, el canino domestico es considerado epidemiológicamente como un hospedador accidental por todo lo anterior expuesto, el objetivo de la presente investigación fué determinar la presencia de *Leishmania* spp. en perros mestizos residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha, para esto, se muestrearon 113 perros (58 machos y 55 hembras) con lesiones dermatológicas y distribuidos según el grupo etario en cachorros 33 (29,2%), adultos 38 (33,6%), geriátricos 42 (37,2%), y distribuidos en zonas periurbanas 10 (8,8%) y rurales 103 (91,2%). De estos animales se tomaron citologías de piel (pústulas, úlceras, costras) además, se tomó muestras por medio de punción de aguja fina (PAF) de linfonodos submandibulares o poplíteos; todas las muestras fueron procesadas mediante la tinción DiffQuick. Se determinó que la prevalencia de leishmaniasis en la zona de estudio fue 12,4% (14/113 casos) y que el método de diagnóstico eficaz fue por medio de citología de linfonodos. Los grupos etarios con mayor número de casos fueron: adultos (42,9%) y geriátricos (42,9%). Estadísticamente ( $gl = 1; p < 0,05$ ) es significativa la presencia de la enfermedad con respecto al método de diagnóstico, y no es significativa ( $gl = 2; p > 0,05$ ) para edad, ( $gl = 1; p > 0,05$ ) hábitat y ( $gl = 1; p > 0,05$ ) tipo de exposición. Se concluye que existe la presencia de leishmaniasis en las zonas de estudio y que la enfermedad afecta independientemente del sexo.

## PALABRAS CLAVES

*Leishmania* spp. Citología. Leishmaniasis. Perro



## ABSTRACT

Leishmaniasis is a public health disease due to its level of zoonosis, distributed worldwide including our country. This disease affects both human beings and wild and domestic animals, the domestic canine is epidemiologically considered as an accidental host due to all the above, the objective of the present investigation was to determine the presence of *Leishmania* spp. in mongrel dogs residing in tropical areas of the province of Pichincha, for this, 113 dogs (58 males and 55 females) with dermatological lesions were sampled and distributed according to the age group in puppies 33 (29.2%), adults 38 (33, 6%), geriatric 42 (37.2%), and distributed in peri-urban areas 10 (8.8%) and rural 103 (91.2%). Skin cytologies (pustules, ulcers, scabs) were taken from these animals. In addition, samples were taken by means of fine needle puncture (FAP) of submandibular or popliteal lymph nodes; all samples were processed by DiffQuick staining. It was determined that the prevalence of leishmaniasis in the study area was 12.4% (14/113 cases) and that the effective diagnostic method was through lymph node cytology. The age groups with the highest number of cases were: adults (42.9%) and geriatric (42.9%). Statistically ( $g1 = 1; p < 0.05$ ) the presence of the disease is significant with respect to the diagnostic method, and it is not significant ( $g1 = 2; p > 0.05$ ) for age, ( $g1 = 1; p > 0.05$ ) habitat and ( $g1 = 1; p > 0.05$ ) type of exposure. It is concluded that there is the presence of leishmaniasis in the study areas and that the disease affects regardless of sex.

## KEYWORDS

*Leishmania* spp. Cytology. Leishmaniasis. Dog



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO II: OBJETIVOS .....	14
CAPÍTULO III: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1 Etiología .....	15
3.1.1 El parásito .....	15
3.1.1.1 Clasificación taxonómica de Leishmania.....	15
3.1.1.2 Ciclo biológico y morfología del parásito.....	17
3.1.2 El vector.....	20
3.1.2.1 Taxonomía y distribución geográfica.....	21
3.1.2.2 Otros vectores.....	22
3.3 Signos clínicos .....	24
3.3.1 Leishmaniasis visceral cutánea (LVC) .....	24
3.3.2 Leishmaniasis cutánea canina (LCC) .....	24
3.4 Alteraciones clínicopatológicas .....	26
3.5 Métodos de diagnóstico.....	26
3.5.1 Serología .....	27
3.5.2 Pruebas directas.....	28
3.5.2.1 Citología.....	28
3.5.2.2 Reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) .....	29
3.6 Tratamiento.....	30
CAPÍTULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
4.1 Diseño de la investigación .....	33
CAPÍTULO V: RESULTADOS.....	35
CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN.....	37
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40
ANEXOS.....	42



## **LISTA DE TABLAS**

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de Leishmania

**Tabla 2.** Taxonomía del flebótomo

**Tabla 3.** Presencia de Leishmaniosis



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.-** Ciclo de vida de Leishmania

**Figura 2.-** Citología de linfonodos y de piel



## Abreviaturas

OMS	Organización Mundial de la Salud
LVC	Leishmaniasis visceral cutánea
LCC	Leishmaniasis cutánea canina
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RFLP	Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción
ADN	Acido desoxirribonucleico
IFAT	Prueba de Inmunofluorescencia
ELISA	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
ICT	Prueba de Inmunocromatografía
PAF	Punción de aguja fina
ERC	Enfermedad renal crónica



## Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Oscar Daniel Vargas Cano en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Determinación de *Leishmania spp.* en perros (*Canis Lupus Familiaris*) residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 30 de Septiembre 2021

Oscar Daniel Vargas Cano

CI. 1714109210





## Cláusula de propiedad intelectual

Oscar Daniel Vargas Cano, autor del trabajo de titulación “**Determinación de *Leishmania spp.* en perros (*Canis lupus familiaris*) residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 30 de Septiembre 2021

Oscar Daniel Vargas Cano

CI. 1714109210



## **DEDICATORIA**

Este segundo trabajo va dedicado al ser que ilumina mi camino, que me impulsa a ser mejor cada día, a Joaquín Vargas Fuentes MI PADRE, su legado está en sus hijos y nietos.



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por mantenerme con salud, vida y enseñarme a valorar el significado de la misma.

A mi Mamá Martha Cecilia por todo su apoyo en este camino.

A mis Hermanos Fernando y Richard por sus consejos y su ejemplo de tenacidad.

A mis tíos Silvi y Galito que a pesar de la distancia siempre están pendientes de mí

A mi directora de tesis Doctora Verito Pareja por sus enseñanzas.

A mi gran amigo y colega Esteban Montenegro por sus consejos.

A Emilio Armendáriz y Diana Tulcanazo colegas y amigos por su colaboración.

A la familia Apolo Freire por brindarme el apoyo en este estudio.

A la Señorita Sofy Flor por la ayuda en este estudio.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Las diferentes formas clínicas de la Leishmaniasis están constituidas como un grave problema de salud pública en aquellos países en la que es considerada como endémica (SNEM, 2017).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su programa de investigación en enfermedades tropicales (*Tropical Disease Research* por sus siglas en inglés), ha clasificado la Leishmaniasis en la categoría I como una enfermedad emergente y sin control

La Leishmaniasis es una enfermedad de importancia en salud pública por su nivel de zoonosis y se encuentra distribuida a nivel mundial incluyendo nuestro país, siendo las principales regiones afectadas las regiones rurales de la costa y amazonia, es decir todas aquellas localidades que se encuentran a partir de los 300 msnm y en valles andinos de la sierra con una altitud entre los 1200 a 2400 msnm. En el país la transmisión de la enfermedad puede presentar dos patrones: 1) brotes asociados a la incursión del humano en un hábitat silvestre con transmisión natural la cual puede darse cuando se desarrolla las siguientes actividades como la tala de bosques, construcción de carreteras, áreas nuevas de colonización, o en el caso de migración hacia áreas endémicas para realizar trabajos como la extracción de oro, madera, recolección de café, sembrío de arroz, incursiones militares, entre otros; y 2) transmisión por asentamientos urbanos cuando los vectores y reservorios se acercan a los domicilios rodeados de flores, en este patrón, algunos mamíferos domésticos como el perro podrían tener un papel importante como reservorios (SNEM, 2017).



En nuestro país existe poco conocimiento sobre esta enfermedad ya sea por no tener en cuenta que técnica de diagnóstico sea la más eficaz, el desconocimiento del costo al momento del diagnóstico o por no tener laboratorios y personal capacitado en Leishmaniasis o simplemente por el motivo de que las autoridades competentes no difunden los riesgos que implica esta enfermedad en la salud pública, ya que la declaración es de carácter obligatorio solo en humanos pero no tienen en cuenta que los caninos son el principal reservorio de *Leishmania* spp. y por ello debería ser obligatoria la declaración de esta enfermedad en animales domésticos como los caninos para tener en cuenta el número de casos y los signos clínicos para un mejor diagnóstico por parte del Médico Veterinario.

Ushiña *et al.*, (2016) indica que el Ministerio de Salud Pública del Ecuador a través de la Dirección de Vigilancia Epidemiológica reportó una tasa nacional de 5,83% de casos por cada 100000 habitantes. Los reportes se registran en 22 provincias del país, excluyéndose a Tungurahua y Galápagos, las provincias con mayor prevalencia son: Santo Domingo, Napo y Orellana.

Callejas, (2017) realizó un estudio en la ciudad de Quito, en el cual se encontraron dos casos en caninos en los que establecieron los hallazgos clínicos más relevantes, los cuales fueron linfadenomegalia en linfonódulos periféricos e hiperproteíнемia en ambos pacientes, el diagnóstico definitivo fue a través de citología de los linfonodos observándose amastigotes de *Leishmania* spp.

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de la presente investigación fue la determinación de *Leishmania* spp. en perros residentes en zonas tropicales de la Provincia de Pichincha, por medio de citología de piel y linfonodos, además, definir si la presencia de caninos positivos en el área de estudio tiene que ver con los factores del



hábitat y su entorno como la edad, lo cual sea un factor predisponente en el desarrollo de la enfermedad.



## CAPÍTULO II: OBJETIVOS

### **Objetivo General**

Determinar la presencia de *Leishmania* spp. en perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha.

### **Objetivos Específicos**

- Establecer cuáles son los factores del hábitat y entorno asociados con la presencia de perros positivos a *Leishmania* spp. en el área bajo estudio.
- Establecer si la edad es un factor predisponente en la manifestación de *Leishmania*



## CAPÍTULO III: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Etiología

#### 3.1.1 El parásito

En 1903, William Leishman y Charles Donovan identificaron por primera vez este parásito protista en el bazo de enfermos hindúes con signos clínicos semejantes a los producidos por la malaria. Este nuevo agente se denominó *Leishmania donovani*, en honor a sus codescubridores y a la enfermedad Kalaazar (del sánscrito: Kala “negra, impura” y azar “fiebre”) o leishmaniosis visceral (Martinez, Miró, & Matute, 2016).

##### 3.1.1.1 Clasificación taxonómica de *Leishmania*

La leishmaniasis es una metazoosis, enfermedad que involucra a mamíferos, seres humanos y vectores invertebrados, causada por protozoarios (Bedoya, 2019).

Tabla 1. Clasificación taxonómica

Reino	<i>Protista</i>
Filo	<i>Euglenozoa</i>
Subfilo	<i>Saccostoma</i>
Clase	<i>Kinetoplastea</i>
Orden	<i>Trypanosomatida</i>
Familia	<i>Trypanosomatidae</i>
Género	<i>Leishmania</i>

Tomado de Martinez *et al.*, (2016)

El género *Leishmania* se divide en 2 subgéneros y dependen del lugar de reproducción en el tracto digestivo del vector. Subgénero *Leishmania* con





multiplicación del intestino medio de los flagelados y presente tanto en el Viejo Mundo como en el Nuevo Mundo, y subgénero *Viannia* con multiplicación en el intestino distal y restringida al Nuevo Mundo (Martinez *et al.*, 2016).

Bedoya, (2019) añade que solo veinte especies han sido incriminadas de causar la enfermedad en seres humanos y han sido clasificadas en complejos.

La clasificación de las distintas especies del género *Leishmania* siempre ha sido muy confusa debido a que son morfológicamente indistinguibles. Se han empleado criterios como la geografía, la persona que la describe por primera vez, el cuadro clínico y otras características que han dado lugar a nomenclaturas complejas de las 23 especies conocidas. Es importante identificar y caracterizar las especies para poder conocer la patogenia y epidemiología con el objetivo de establecer de mejor manera el diagnóstico, tratamiento y control. Los métodos de identificación empleados en la actualidad se basan en el estudio del fenotipo, como isoenzimas y anticuerpos monoclonales, y del genotipo, como el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), la hibridación con sondas de ácidos nucleicos y las técnicas de amplificación de ADN, que estudian directamente el genoma, siendo por tanto más sensibles y específicas (Martinez *et al.*, 2016).

La electroforesis de isoenzima es la técnica de identificación para la clasificación del género, desde el punto de vista taxonómico. Así, los parásitos de la misma especie que poseen idéntico patrón enzimático pertenecen al mismo zimodema denominándose con el acrónimo “MON” (Martinez *et al.*, 2016).

La infección por *Leishmania infantum* se describió por primera vez en 1908 por Nicolle y Comte en Túnez. Además, es el agente etiológico de la leishmaniosis visceral zoonótica y la leishmaniosis cutánea, es la única especie de *Leishmania spp.* presente



tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo, y es la principal especie implantada en Europa (Martinez *et al.*, 2016).

*L. infantum* se incluye dentro del complejo o grupo taxonómico *L. donovani*. *L. donovani*, es el agente etiológico del Kalaazar en humanos en el subcontinente indio y el este de África y posee un ciclo de transmisión antroponóptico, siendo los humanos el principal reservorio (Martinez *et al.*, 2016).

En el perro se ha confirmado la infección por *L. donovani* en áreas endémicas. Se ha detectado la coinfección de *L. donovani* y *L. infantum* en un perro en Chipre, de forma que el movimiento de estos perros al resto de Europa donde se encuentran vectores de *L. donovani*, implica un riesgo de transmisión. No existe una distinción genética entre estas dos especies, lo que dificulta su identificación molecular en países donde coexisten ambas, como ocurre en la región oriental del Mediterráneo (Jaramillo, 2017).

Martinez *et al.*, (2016) señala que en Brasil, la forma cutánea en el perro está causada por *L. braziliensis*, enfermedad diagnosticada comúnmente en perros residentes en zonas rurales. Donde la leishmaniasis cutánea es endémica en humanos, habiéndose documentado algunos casos de coinfecciones por *L. infantum* y *L. braziliensis* en perros, (Jaramillo, 2017) corrobora dicha información que tanto en humanos como en perros existe una presentación mucocutánea ocasionada por el mismo agente.

### 3.1.1.2 Ciclo biológico y morfología del parásito

El vector natural de *Leishmania* spp. son dípteros pertenecientes a la familia *Psychodidae*, subfamilia *Phlebotominae*, género *Phlebotomus* en el viejo mundo “África y Europa” y *Lutzomyia* en el nuevo mundo “América”. Morfológicamente, *Lutzomyia* es un insecto de 3 a 5 milímetros de longitud que en estado de reposo pliegan



sus alas en forma de V, poseen un cuerpo cubierto de cerdas y tienen patas largas. Solo las hembras son hematófagas y son capaces de transmitir parásitos del género *Leishmania* a través de su picadura (Rojas, 2017).

Los parásitos del género *Leishmania* pueden diferenciarse en las formas de promastigote y amastigote. Los amastigotes se adaptan a la temperatura del hospedador y al medio ácido de los fagolisosomas de los macrófagos donde residen (Rojas, 2017). El promastigote es extracelular y móvil con un largo de 10 a 30  $\mu\text{m}$  y un ancho de 3 a 5  $\mu\text{m}$  siendo la forma infectante presente en el organismo vector, puntualmente en el sistema digestivo donde se dividen por fisión binaria, con un núcleo central y un kinetoplasto terminal o subterminal y en la parte anterior del parásito se origina un flagelo, casi de igual tamaño que el cuerpo (Bedoya, 2019).

El ciclo de vida de la mayoría de las especies de *Leishmania* es igual y se desarrolla en dos hospederos distintos: un vertebrado y un artrópodo. El hospedero vertebrado puede ser: un animal silvestre (endémico) y en segundo lugar puede ser un humano y/o animales domésticos o peridomésticos (residen cerca al humano) (Perez, 2017).

La *Leishmania* tiene 2 fases principales, una llamada promastigote, que se desarrolla en forma extracelular, es una célula alargada, fusiforme y flexible. Se mueve a través de la acción de un flagelo. El núcleo está localizado en la mitad, con un cinetoplasto ubicado entre el núcleo y el flagelo. Esta fase es desarrollada en el vector (Perez, 2017)

La segunda forma llamada amastigote, es la forma intracelular, se desarrolla en macrófagos y tiene forma ovalada, redondeada y no posee flagelo. El cinetoplasto está muy cerca del núcleo y ocurre en los vertebrados (Perez, 2017).



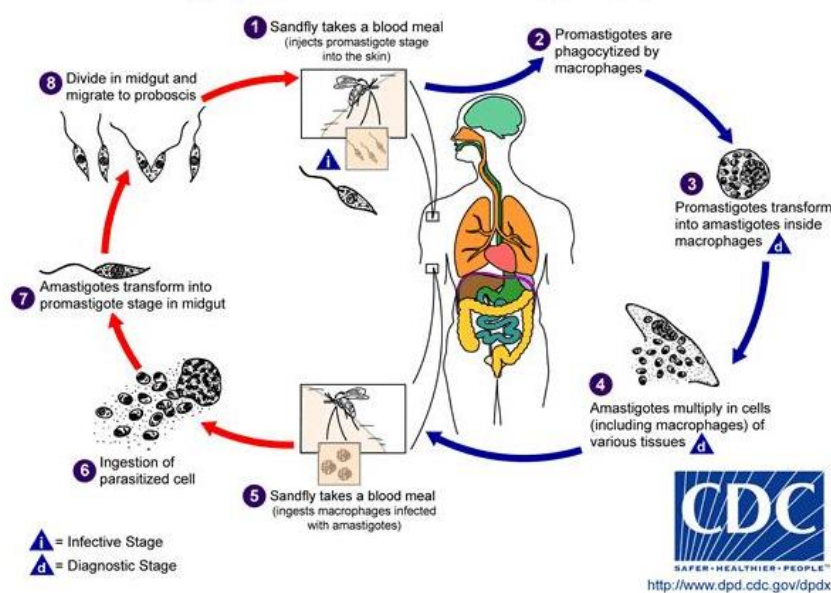
El ciclo de infección inicia con el vector (flebótomo hembra) alimentándose de un hospedero. Puede ingerir tanto el parásito en forma de amastigote, que se encuentran en la piel o macrófagos infectados, en un periodo de 24 a 48 horas. Dentro del intestino del vector, los amastigotes se transforman en promastigotes y se dividen por fisión binaria. Una vez replicados se dirigen a esófago, faringe y proboscis del vector (Perez, 2017).

Perez, (2017) indica que el ciclo continúa cuando el vector infectado pica a otro hospedero y Rojas, (2017) añade que el vector introduce 20 a 200 promastigotes.

En ocasiones los parásitos se acumulan en la proboscis del vector cuando la infección es excesiva. Esto ocasiona que no se pueda alimentar libremente y efectúe múltiples picaduras inoculando en diversas partes de la piel (Tamponi *et al.*, 2021).

Al momento que los promastigotes ingresan a la dermis, los mismos se ubican en el espacio extracelular, ocasionando la acumulación de macrófagos y neutrófilos. Los promastigotes ingresan en las células del tejido reticuloendotelial como los macrófagos (Troya, 2019).

En un periodo de 3 a 4 horas se transforman en amastigotes y permanecen en latencia por un tiempo de 36 horas, hasta reproducirse por fisión binaria, empezando por el cinetoplasto (Perez, 2017). Los amastigotes pueden llegar a un número de 200, pero sólo con 20 de ellos puede provocar la lisis de la célula, liberando a los amastigotes que infectaran a otras células del sistema inmune. (Bedoya, 2019) añade que los amastigotes libres son fagocitados por otros macrófagos generando un ciclo cuyo resultado es una alta parasitemia que conlleva a un cuadro clínico y (Rojas, 2017) indica que el vector pica al hospedero y se da inicio a otro ciclo.

Figura 1. Ciclo de vida de *Leishmania spp*

Tomado de (Troya, 2019)

### 3.1.2 El vector

Los flebótomos (Diptera: Psychodidae) son vectores de diversos agentes infecciosos y parasitarios como *Phlebovirus*, *Vesiculovirus*, *Bartonella bacilliformis* y *Leishmania* spp. Las hembras son los únicos insectos capaces de transmitir las especies del género *Leishmania* conocidas (Martinez *et al.*, 2016).

Perez, (2017) añade y corrobora que existen 5 especies de flebótomos en el mundo: *Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Lutzomia*, *Warileya* y *Brumptomyia*. La importancia médica de estos vectores está determinada por su capacidad vectorial, no obstante *Phlebotomus* y *Lutzomia* han sido identificados como vectores de *Leishmania*.



## 3.1.2.1 Taxonomía y distribución geográfica

Tabla 2. Taxonomía flebótomo

<b>Reino</b>	<i>Animalia</i>
<b>Filo</b>	<i>Arthropoda</i>
<b>Clase</b>	<i>Insecta</i>
<b>Orden</b>	<i>Diptera</i>
<b>Suborden</b>	<i>Nematocera</i>
<b>Familia</b>	<i>Psychodidae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Phlebotominae</i>
<b>Genero</b>	<i>Phlebotomus/Lutzomyia</i>

Tomado de (Perez, 2017)

Las especies identificadas correspondientes a los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* son alrededor de 98 especies los cuales son vectores confirmados o sospechosos de leishmaniosis canina y humana, a esto se suman nueve especies de flebotomos autóctonos en Europa, los cuales son: *P. ariasi*, *P. perniciosus*, *P. perfiliewi*, *P. neglectus*, *P. tobbi*, *P. kandelaki*, *P. balcanicus*, *P. papatasi* y *P. sergenti*, consideradas vectores demostrados o potenciales de *L. infantum* (Troya, 2019)

En Perú, se han registrado 162 especies de flebótomos (*Lutzomia*) entre las cuales están: *L. Flaviscutellata*, *L. yulli yulli*, *L. tejadai*, *L. pescei*, *L. ayacuchensis*, *L. peruensis*, *L. verrucarum* y *L. ubiquitous*, implicados en la transmisión de las especies de *Leishmania*: *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. peruviana*, *L. lainsoni* y *L. guyanensis* Arque *et al.*, (2020). En Colombia existen 9 géneros y 16 especies, de las cuales, el 60% de toda la flebótomofauna recolectada está representada por *Nyssomyia yuilli* y *Nyssomyia trapidoi*. En menor cantidad pero de mucha importancia por antecedentes vectoriales son *Lutzomyia hartmanni* *Psychodopygus panamensis*, *Lutzomyia gomezi* y *Psychodopygus carrerai* (Martínez, Ávila, & Molano, 2019).



En Ecuador, específicamente en las localidades de Progreso (Guayas), Calceta (Manabí), Shushufindi (Sucumbíos) y Shell (Pastaza) se han identificado 7 géneros de flebótomos y 8 especies de *Lutzomyia* las cuales fueron *Helcocyrtomyia tortura*, *Micropygomyia cayennensis*, *Psychodopygus paraensis*, *Trichophoromyia napoensis*, *Nysomyia yuilli yuilli*, *Psychodopygus davisii*, *Evandromyia walkeri*, y *Trichophoromyia ubiquitalis*.

### 3.1.2.2 Otros vectores

En Brasil, la leishmaniasis visceral canina es endémica y se ha demostrado que *R. sanguineus* sería el trasmisor de los patógenos a los perros en zonas donde existe esta enfermedad, con casos autóctonos en donde no se identificó la presencia de dípteros flebótomos como *Lutzomyia longipalpis*. En Perú se capturó tres Tapires (*Tapirus terrestris*) y tres pecarí de collar (*Pecari tajacu*), en el lapso de una semana encontrándose un total de 304 garrapatas; de las especies de garrapatas identificadas en *Tapirus terrestris*, todas, excepto una que fue identificada como *Haemaphysalis juxtakochi*, pertenecían al género *Amblyoma* sp. mientras que en *Pecari tajacu*, se encontró solo el género *Rhipicephalus* spp. de estas especies de garrapatas se extrajo el DNA y se identificó por PCR el DNA de *Leishmania* (*Viannia*) en tres *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* colectadas de *Pecari tajacu* y en una de ellas por PCR-HRM se pudo identificar a *Leishmania* (*V.*) *guyanensis*, agente causal de la leishmaniasis cutánea. Estos descubrimientos amplían la información y distribución de *Leishmania* (*V.*) *guyanensis* encontrado en *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* en zonas silvestres y que ya serían otros los vectores vinculados en la transmisión de la enfermedad (Rojas, 2017).



Pennisi *et al.*, (2015) realizó un estudio en Italia en donde se tomaron en cuenta gatos que estaban infestados de garrapatas, se extrajeron 132 garrapatas adultas para realizar la identificación morfológica por medio de PCR en tiempo real. Las garrapatas *Ixodes ventalloi* fueron las especies de garrapatas más prevalentes extraídas de los gatos y por primera vez se encontró PCR positiva a *L. infantum*.

Por otro lado, en un estudio realizado en Brasil por Morais *et al.*, (2013) obtuvieron de una muestra de 117 ectoparásitos, entre los cuales están: pulgas (*Ctenocephalides felis*), garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) y piojos (*Heterodoxus spiniger*). pertenecientes a 99 perros, en donde se encontraron ectoparásitos positivos para *L. braziliensis*.

### 3.2 Transmisión

Esta enfermedad es de suma importancia en los seres humanos aunque también afecta a los animales silvestres y domésticos. Epidemiológicamente, se han señalado dos formas de transmisión de la enfermedad hacia el ser humano; primero, la enfermedad es de tipo zoonótico, en esta forma de transmisión el canino es el origen de la parasitosis siendo considerado como un hospedador accidental al ser humano y la segunda forma de transmisión es aquella en la que se establece al ser humano como hospedador directo de la enfermedad (Jaramillo, 2017).

Troya, (2019) añade que en el ser humano la Leishmania se transmite por la picadura del flebótomo hembra infectado, el cual debe ingerir sangre para empezar con la producción de huevos.





### 3.3 Signos clínicos

Se han descrito diversas manifestaciones clínicas y tipos de respuesta inmune en caninos infectados con *Leishmania* spp. Se pueden presentar tres escenarios: infección subclínica, una enfermedad autolimitante o una enfermedad severa que no se puede controlar. Asimismo, en esta especie, se han establecido dos manifestaciones clínicas fundamentales, que corresponden a leishmaniasis visceral canina (LVC) y leishmaniasis cutánea canina (LCC) (Rivero, 2016),

Corrobora Acero *et al.*, (2015) que los signos clínicos y el pronóstico dependen de la cepa con la que el perro se infecte; si es cutánea (*L. panamensis*, *L. braziliensis*) o visceral (*L. infantum*). Esta enfermedad afecta a animales de todas las razas, edades y sexos.

#### 3.3.1 Leishmaniasis visceral cutánea (LVC)

Los perros infectados por *L. infantum*, pueden desarrollar una enfermedad fatal conocida como leishmaniasis visceral canina, presentando, linfadenomegalia, atrofia muscular, úlceras en la piel, pérdida de peso, anorexia, onicogriposis, esplenomegalia, poliuria, polidipsia, entre otros signos. La falla renal crónica es una manifestación de la progresión de la enfermedad y ocurre en casi todos los perros infectados con el parásito y es la principal causa de muerte en leishmaniasis visceral canina (Rivero, 2016).

Acero *et al.*, (2015) añade que la enfermedad renal se puede presentar como glomerulonefritis (asociada a depósito de complejos inmunes), nefritis intersticial, síndrome nefrótico y progresar a insuficiencia renal crónica.

#### 3.3.2 Leishmaniasis cutánea canina (LCC)



Esta presentación clínica es menos documentada que la anterior, sin embargo, existen reportes de esta forma clínica en caninos. Consiste principalmente, en úlceras y otras lesiones cutáneas, similares a las que se presentan en los casos humanos, causadas por diferentes especies de *Leishmania*, se podría decir que en la mayoría del subgénero *Viannia*. Algunas especies, que han sido registradas como causantes de LCC son *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) panamensis*, *L. (Viannia) guyanensis*, *L. (Viannia) peruviana*. En América del Sur se ha establecido que *L. braziliensis* causa en los perros, leishmaniasis cutánea, con manifestaciones tales como: lesiones en la piel, que comienzan con la formación de un nódulo en el lugar donde ocurrió la picadura, este nódulo aumenta de tamaño y puede ulcerarse, aunque las lesiones también pueden aparecer como placas, las lesiones, generalmente se presentan en la nariz, los oídos, y la región perineal, que son las regiones del cuerpo donde los perros tienen menos pelo (Rivero, 2016).

La evolución de la enfermedad depende en gran medida de la capacidad que tiene el sistema inmune del individuo para eliminar al parásito, asociado a: factores genéticos, la respuesta inmune y enfermedades coexistentes como: ehrlichiosis, anaplasmosis granulomatosa, rickettsiosis, bartonelosis, babesiosis, hepatozoonosis y dirofilariasis. Los signos clínicos, son causados por procesos inflamatorios y lesiones inmunomediadas, (Bedoya, 2019)

En un estudio realizado por Makino *et al.*, (2020) señala que los principales signos dermatológicos en perros positivos a este agente fueron alopecia, descamación, prurito, onicogriposis. Ortega *et al.*, (2019) añade que las lesiones cutáneas se presentan con formas redondeadas, ulceradas y eritematosas, los cuales están asociados con la multiplicación de amastigotes en el interior de los macrófagos y otras células del sistema fagocítico mononuclear.



### 3.4 Alteraciones clínicopatológicas

Los análisis de sangre son primordiales, sobre todo en casos dudosos, y permiten conocer el estado general del animal y seguir la evolución clínica tras el tratamiento (Callejas, 2017).

El hemograma suele caracterizarse por la presencia de anemia normocítica, normocrómica y no regenerativa, leucocitosis o leucopenia y trombocitopenia Nelson & Couto, (2020). La anemia está presente en la mayoría de los perros con leishmaniosis debido a una insuficiencia renal crónica o reducción en la eritropoyesis, y en pocas ocasiones puede agravarse por pérdidas de sangre o la destrucción inmunomediada de glóbulos rojos. En una minoría de casos se producen alteraciones en el perfil bioquímico hepato-renal, destacando la elevación de las enzimas hepáticas (como alanina aminotransferasa (ALT) o fosfatasa alcalina) y azotemia renal (elevación de urea y creatinina) (Martinez *et al.*, 2016).

### 3.5 Métodos de diagnóstico

Se utilizan pruebas directas para confirmar la presencia del parásito o sus componentes y las pruebas indirectas para confirmar la respuesta del huésped al parásito. Las pruebas indirectas positivas (serología) pueden indicar o no una infección actual. Por el contrario, las pruebas directas positivas (citología, histología, inmunohistoquímica, PCR, cultivo y xenodiagnóstico) demuestran que el perro está realmente infectado con *Leishmania* spp. El diagnóstico de la presencia real de una enfermedad debe fundamentarse en hallazgos clínicos y pruebas clínico-patológicas (Ortega *et al.*, 2019).



### 3.5.1 Serología

Las técnicas más comunes utilizadas para detectar anticuerpos antileishmaniales se basan en 3 principios analíticos: prueba de anticuerpos inmunofluorescentes (IFAT), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y prueba inmunocromatográfica (ICT). Este último método es la base de todos los ensayos clínicos rápidos, que solo proporcionan un resultado cualitativo, es decir, presencia o ausencia de bandas o manchas reactivas específicas. Se encuentran disponibles varios kits de ICT comerciales, que se basan en *Leishmania* spp. recombinante simple o múltiple, antígenos que se incubarán con suero, plasma, sangre o manchas de sangre secadas sobre papel de filtro (Nelson & Couto, 2020).

Según Paltrinieri *et al.*, (2016) la especificidad de estas pruebas es aceptable, pero la sensibilidad suele ser baja (30 - 70%) y depende en gran medida del estadio de la enfermedad. La sensibilidad más baja de la prueba se asocia con perros infectados sin signos clínicos, la más alta con perros con signos clínicos. Por lo tanto, las ICT se pueden utilizar como primera prueba en la clínica para completar la evaluación de laboratorio de perros clínicamente sospechosos. En caso de un resultado positivo, se debe realizar una serología cuantitativa (ELISA o IFAT) para obtener un resultado numérico. Además, debido a su baja sensibilidad, una ICT negativa debe ser discutida si el perro presenta fuertes signos clínicos, por lo tanto, debe ser diagnosticada por IFAT o ELISA.

Ortega *et al.*, (2019) informa que el IFAT se considera el método de referencia para anti- *Leishmania* en perros, basado en la alta sensibilidad y especificidad (cerca del 100% para ambos), Paltrinieri *et al.*, (2016) añade que esto no se da en áreas endémicas, para el parásito del Nuevo Mundo *Trypanosoma cruzi* ya que pueden dar resultados falsos positivos.



### 3.5.2 Pruebas directas

#### 3.5.2.1 Citología

Prueba diagnóstica concluyente, simple y de fácil empleo en las clínicas veterinarias debido a su bajo costo, el poco instrumental que requiere, la rápida obtención de resultados y la elevada especificidad, especialmente en perros con signos clínico. Consiste en la observación microscópica directa de amastigotes de *Leishmania* en extensiones del material aspirado, principalmente de linfonodos reactivos, especialmente los linfonodos poplíteos que constituyen la muestra más adecuada para la observación directa de amastigotes en animales con signos clínicos y piel teñidas mediante métodos metacromáticos convencionales (Giemsa, MayGrunwald, DiffQuick) (Martinez *et al.*, 2016).

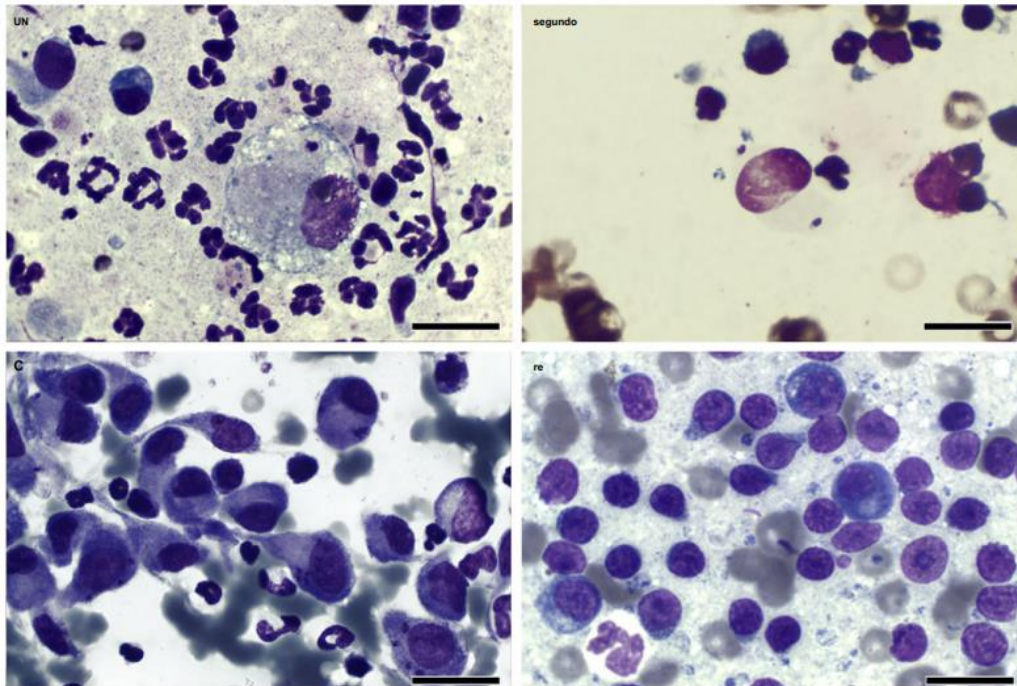
Paltrinieri *et al.*, (2016) añade que la aspiración con aguja fina debe realizarse en todos los casos con lesiones cutáneas papulares o nodulares. Además, nos informa que la presencia de amastigotes está asociado a masas nodulares con localización atípica como la lengua, testículo, masas orales o nasales. Por lo tanto, cualquier lesión nodular en perros con signos clínicos o de laboratorio potencialmente compatibles con leishmaniasis (p. Ej., Anemia, ERC, alteraciones de los electroforetogramas, serología positiva) debe tomarse como muestra por aspiración con aguja fina (PAF).

Los amastigotes se observan en el interior del citoplasma de monocitos, neutrófilos o principalmente macrófagos o libres, como cuerpos ovalados de 2-4 micras de diámetro (Nelson & Couto, 2020)



La sensibilidad de esta técnica va a depender de la experiencia del observador, la calidad del frotis, el número de campos visuales examinados y la carga parasitaria (Martinez *et al.*, 2016).

**Figura 2.-** Citología de linfonodos y piel



Tomado de Paltrinieri *et al.*, (2016)

### 3.5.2.2 Reacción de la cadena de la polimerasa (PCR)

PCR convencional, PCR anidada y la PCR cuantitativa (en tiempo real) se utilizan ampliamente en la práctica habitual. La sensibilidad y la especificidad varían según el método y la secuencia de ADN. La mayoría de las pruebas de PCR que se utilizan actualmente se dirigen a secuencias de ADN multicopia, como los genes de ARN ribosómico de subunidades pequeñas o los minicírculos de ADN del cinetoplasto, lo que aumenta la sensibilidad de la prueba (Paltrinieri *et al.*, 2016).

La técnica de PCR cuantitativa ofrece 2 ventajas principales versus a la PCR convencional y anidada y es que puede procesarse en sistemas cerrados (evita la contaminación) y facilitan la información sobre el número de copias de ADN presente



en la muestra. Este último aspecto puede ser importante en el seguimiento y monitorización en la eficacia de los tratamientos leishmanicidas y, por lo tanto, puede ser aconsejable utilizar PCR cuantitativa en el primer diagnóstico (antes de cualquier tratamiento) para establecer un valor de línea de base para la comparación de resultados futuros durante el tratamiento (Paltrinieri *et al.*, 2016).

### 3.6 Tratamiento

Nelson & Couto, (2020) indica que se debe tratar a los perros que son seropositivos, positivos a la citología o a la PCR y que presenten signos clínicos de leishmaniasis. El pronóstico es variable a pesar de presentar mejoría a la administración de fármacos, además, ningún fármaco o la combinación de fármacos ha logrado eliminar de forma eficaz la *Leishmania* del organismo. Por ejemplo, la combinación de antimoniacaes y alopurinol a una dosis de 15 mg/kg vía oral cada 12 horas, resultó ser una mejor terapia que el uso separado de estos dos fármacos, sin embargo, la implementación de una terapia a largo plazo no garantiza la eliminación de la enfermedad

El mismo autor señala que después de un año de tratamiento con antimonio de meglumina a 50 mg/kg vía subcutánea cada 12 horas sumado a alopurinol a 15mg/kg vía oral cada 12 horas durante 6 meses, no se documentaron recaídas hasta que se resolvieron las alteraciones clínicas y clinicopatológicas y en algunos perros estuvieron libres de leishmaniasis durante 65 meses

Solano *et al.*, (2016) realizó un estudio con una muestra de 37 perros con leishmaniosis clínica, los cuales, fueron inscritos en el momento de su diagnóstico desde enero de 2014 hasta mayo de 2015. Los perros fueron tratados con una inyección subcutánea diaria de antimonio de meglumina a una dosis de 80-100mg/kg durante un



mes y 10 mg / kg dos veces al día de alopurinol oral durante 12 meses. Se dio seguimiento los días 30 ( $n = 36$ ), 180 ( $n = 37$ ) y 365 ( $n = 29$ ) durante el tratamiento.

En este estudio se demostró que después de 30 días de tratamiento hubo una marcada disminución significativa en el nivel de anticuerpos específicos de *L. infantum* que se corresponde con una mejoría clínica.





## CAPÍTULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó al noroccidente de la Provincia de Pichincha, en la parroquia de Mindo y San Miguel de los Bancos. Se contempló una muestra de 113 caninos machos y hembras de diferentes edades (rango de 3 meses a 10 años), la única condición para la inclusión en el estudio era que todos estos presenten lesiones de piel como costras, úlceras, nódulos, pústulas; y linfonodos reactivos y sus constantes fisiológicas en rangos normales procedentes del Noroccidente de la provincia de Pichincha. (**Ver Anexo 1**), además los animales muestreados tenían antecedentes de haber tenido contacto con animales salvajes por cuanto estos son (ratones, zarigüeyas, moscas como los flebótomos) que son vectores de la enfermedad.

Al momento que llegaron los pacientes se realizó la anamnesis correspondiente en donde se tomaron datos como: nombre del paciente, edad, sexo, peso, raza, contacto con otras especies, presencia de ectoparásitos, tratamiento para ectoparásitos. Se dividió en 3 grupos etarios (cachorros, adultos y geriátricos), así mismo, el hábitat (zona urbana y rural), lo mismo con el tipo de exposición (dentro y fuera de casa). Después se realizó el exámen físico por medio de estetoscopio y termómetro, teniendo en cuenta que sus constantes fisiológicas estén en rangos normales, además, de la palpación de linfonodos y la valoración dermatológica (lesiones importantes en piel) (**Ver Anexo 2**)

De cada uno de los animales se tomó muestras de piel, por medio de un bisturí se realizó un raspado de la piel hasta obtener un leve sangrado, después, se colocó en un porta objetos la muestra y se guardó, además, en la piel existieron costras y/o úlceras en la piel, se tomó un porta objetos y se toma contacto con la lesión (impronta) y se guarda



la muestra. Por medio de una aguja calibre 22g previa desinfección con torundas de alcohol se realizó una punción de los linfonodos reactivos (submandibulares o poplíteos) y esa muestra se colocó en el porta objetos y con otro porta objetos a una inclinación de 45° se realizó el frotis. **(Ver Anexo 3)**

Al terminar el muestreo se procedió a realizar las tinciones (Diffquick) de cada porta objeto, en cada reactivo se dejó alrededor de 15 segundos y por medio de un microscopio electrónico se observó la presencia o no de *Leishmania spp*

#### 4.1 Diseño de la investigación

Los datos recopilados fueron tabulados en hojas de cálculo Excel y posteriormente fueron analizados estadísticamente en el software SPSS®, es un formato que ofrece IBM, la última versión es la 27.0 actualizada en 2019, la base de dicho software estadístico incluye estadísticas descriptivas como la tabulación y frecuencias de cruce, estadísticas de dos variables, además pruebas T, ANOVA y de correlación. Es posible realizar recopilación de datos, crear estadísticas, análisis de decisiones de gestión.

En esta investigación se usó un diseño observacional descriptivo transversal y su variable dependiente fue la presencia de leishmaniasis y las variables independientes fueron edad, hábitat y tipo de exposición, siendo variables de tipo cualitativo. Los datos analizados como edad, hábitat y tipo de exposición fueron representados como tablas de frecuencias, porcentajes e histogramas. Para el establecimiento de la prevalencia y el grado de asociación entre el padecimiento de la enfermedad con las diferentes características del animal como edad, peso, etc, se utilizó la prueba estadística de Chi-cuadrado y para comprobar diferencias significativas ( $P <$



0,05) entre categorías como es la edad o si la presencia de la enfermedad depende o no de las variables independientes.



## CAPÍTULO V: RESULTADOS

De lo animales muestreados el 13% (14/113) dieron positivo a *Leishmania* spp. **(Ver Anexo 4).**

Los métodos de diagnóstico utilizados fueron: impronta de piel y citología de linfonodos por punción de aguja fina, lo que nos indica que los métodos de diagnóstico influyen en la presencia de la enfermedad ( $gl = 1; p < 0,05$ ); por medio de impronta de piel: 37 animales, los cuales fueron negativos; por medio de citología de linfonodos: 76 animales, de los cuales 14 casos (18,4%) fueron positivos. Una interacción significativa fue encontrada, por lo que los resultados de detección de leishmaniasis dependen del método de diagnóstico utilizado. **(Ver anexo 5)**

Los animales positivos de acuerdo con los grupos etarios; cachorros, adultos y geriátricos son: 2 perros (14,3%), 6 perros (42,9%) y 6 perros (42,9%) respectivamente. Encontrándose una interacción no significativa ( $gl = 2; p > 0,05$ ), lo que indica que la presencia de leishmaniasis es independiente al grupo de edad del perro. **(Ver anexo 6).**

Así mismo el hábitat no influyó en la presencia de la enfermedad ( $gl = 1; p > 0,05$ ) teniendo los siguientes resultados: 10 perros corresponden a zonas periurbanas y 103 perros a zonas rurales, con esto el 100% de animales positivos (#14) se encuentran en zonas rurales. **(Ver anexo 7).**

El tipo de exposición no influyó en la presencia de la enfermedad ( $gl = 1; p > 0,05$ ), teniendo en cuenta que 7 perros corresponden a dentro de casa y 106 perros fuera de casa, encontrándose de estos el 14,3% (2 perros) de casos positivos en el grupo



de dentro de casa y el 85,7% (12 perros) de casos positivos en el grupo fuera de casa.

**(Ver anexo 8)**



## CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN

La determinación de leishmaniasis en el país no está definida a pesar de utilizar técnicas de diagnóstico invasivas y no invasivas (Bedoya, 2019), en nuestro estudio mediante citología de los linfonodos (submandibulares o poplíteos) se obtuvo casos positivos, cabe resaltar que de estos animales todos ellos mostraron alguna sintomatología de tipo cutánea más no sistémica, lo que resalta que esta técnica es muy fiable si se practica un diagnóstico rápido. (Callejas, 2017) en su reporte corrobora que por medio de una citología se puede llegar al diagnóstico de la enfermedad. Tamponi *et al.*, (2021) indica que el rango de prevalencia de la enfermedad es entre el 11 al 21% lo que concuerda con nuestros resultados.

Por medio de (PAF) de linfonodos, se llegó a tener resultados positivos, esto quiere decir que los resultados de detección de leishmaniasis dependen del método de diagnóstico utilizado. Martínez *et al.*, (2016) añade que la muestra ideal para citología son los linfonodos ya que desde la piel, los parásitos son transportados por sangre o linfa a los linfonodos y el bazo y, posteriormente, a otros órganos como hígado y riñones. Después se ocasiona una inflamación granulomatosa que se caracteriza por un infiltrado o proliferación de macrófagos, histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y en algunas ocasiones neutrófilos y eosinófilos, que afecta fundamentalmente a linfonodos, médula ósea, bazo, hígado, intestino, huesos, aparato genital masculino y mucosas.

Paltrinieri *et al.*, (2016) corrobora que los patrones citológicos típicos asociados a la leishmaniasis suelen caracterizarse por infiltración linfoplasmocítica y macrofágica, generalmente asociada a numerosos neutrófilos.



En cuanto a los grupos etarios, Martínez *et al.*, (2016) indica que la edad puede ser un factor de riesgo o de predisposición y que la presentación de la enfermedad se da en edades tempranas (3 a 4 años) y a partir de los 7 a 8 años de edad, sea por inmunodepresión, mayor tiempo de exposición al vector o por enfermedades concomitantes (neoplasias, enfermedades virales y hemoparasitarias como Erlichia),

Tamponi *et al.*, (2021) corrobora que con cada año de vida aumenta la seroprevalencia y añade que la edad es un factor de riesgo para la presentación de leishmaniasis canina. Los resultados de nuestro estudio concuerdan con lo mencionado anteriormente; la presencia de leishmaniasis es independiente al grupo de edad del canino, es decir estadísticamente no es significativa, esto corrobora Spada *et al.*, (2020) en su estudio de 200 animales (80,0%) eran adultos (más de un año de edad), mientras que 50 (20,0%) tenían menos de un año y señala que a pesar de que la tasa de positividad fue mayor entre los animales adultos (69/82; 84,2%), es decir, los mayores de un año, la diferencia no fue estadísticamente significativa,

Con respecto al hábitat y al tipo de exposición de puede decir que los perros positivos (12), su hábitat era en zonas rurales y pasaban fuera de casa, en nuestro estudio la presencia de leishmaniasis no depende del hábitat (periurbano o rural) ni del tipo de exposición (dentro o fuera de casa) del perro. Spada *et al.*, (2020) corrobora que la enfermedad está presente en áreas rurales y señala un estudio transversal realizado en áreas endémicas de Cuiabá-Brasil en donde se demostró que los perros que viven en entornos rurales tienen 1,9 veces más probabilidades de adquirir la infección que los que viven en entornos urbanos. Tamponi *et al.*, (2021) corrobora que los perros que viven en hábitats rurales y al estar más tiempo expuestos al aire libre aumenta la probabilidad a la exposición del vector y esto ocasiona un aumento del riesgo de contraer la enfermedad.



## CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

Se determinó que la prevalencia de la enfermedad es del 12,4% en las zonas estudiadas.

La presencia de leishmaniasis no depende del hábitat (periurbano o rural) ni del tipo de exposición (dentro o fuera de casa) del perro

Los animales que viven en zonas rurales y fuera de casa tienen mayor probabilidad de contagiarse ya que tienen mayor contacto con vectores.

La determinación de la enfermedad depende del método de diagnóstico utilizado.





## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acero, V., Perla, Á., Fonseca, E., Ferrer, L., & Roura, X. (2015). Leishmaniosis canina : herramientas para el diagnóstico en la consulta veterinaria en Colombia, *20(3)*, 4822–4842.
- Arque, W., Arévalo, H., López, E., Toribio, D., Ruiz, J., & Cáceres, A. G. (2020). Presencia de flebótomos (Diptera: Psychodidae) de importancia médica en localidades contiguas a la ciudad de Tarapoto, San Martín, Perú.
- Bedoya, C. (2019). *Determinación de leishmaniasis en caninos del noroccidente de Pichincha, a través de la evaluación de técnicas invasivas y no invasivas Informe.*
- Callejas, A. (2017). Reporte de leishmaniasis en dos caninos atendidos en la ciudad de Quito – Ecuador.
- Jaramillo, D. (2017). Evaluación de la presencia de anticuerpos de leishmania mexicana (igg1 e igg2) producidos por perros infectados naturalmente utilizando western blot., *63*, 63.
- Makino, H., Moreira, J., Bezerra, K. S., Otsubo, A., Bortolini, J., Sousa, V., ... de Almeida, A. (2020). Clinical-dermatological, histological abnormalities and prevalence of trypanosoma caninum and leishmania infantum in dogs from midwest region of Brazil.
- Martínez, D., Ávila, J., & Molano, F. (2019). Sandfly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) present in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in West Boyacá, Colombia.
- Martinez, L., Miró, G., & Matute, A. (2016). *Estudio de la infección por Leishmania infantum en el perro: utilidad de las técnicas diagnósticas no invasivas y nuevas alternativas terapéuticas.*
- Morais, R. C. S. de, Gonçalves-de-Albuquerque, S. da C., Silva, Rô. P. e., Costa, P. L., Silva, K. G. da, Silva, F. J. da, ... Paiva-Cavalcanti, M. de. (2013). Detection and quantification of Leishmania braziliensis in ectoparasites from dogs.
- Nelson, R., & Couto, C. (2020). *Medicina interna de pequeños animales* (6ta edicio).
- Ortega, A., Gutierrez, E., Escamilla, W., Cordero, L., Jiménez, M., & Loria, N. (2019). A fatal case of canine cutaneous leishmaniosis in a dog.
- Paltrinieri, S., Gradoni, L., Roura, X., Zatelli, A., & Zini, E. (2016). Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis.
- Pennisi, M. G., Persichetti, M. F., Serrano, L., Altet, L., Reale, S., Gulotta, L., & Solano-Gallego, L. (2015). Ticks and associated pathogens collected from cats in Sicily and Calabria (Italy).
- Perez, G. (2017). *Identificación de fuentes alimentarias de Lutzomya spp ligadas a casos de lishmaniasis, mediante tecnicas moleculares.*
- Rivero, M. (2016). Detección de Leishmania spp. en población canina (Canis familiaris)



del área urbana del municipio de Ovejas, Sucre.

- Rojas, J. (2017). Detección e identificación molecular de *Leishmania (Viannia) guyanensis* en garrapatas de la especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* colectadas de Pecari tajacu
- SNEM. (2017). Proyecto de vigilancia y control de vectores para la prevención de la transmisión de las enfermedades Metaxenicas en el Ecuador 2013-2017.
- Solano, L., Di Filippo, L., Ordeix, L., Planellas, M., Roura, X., Altet, L., ... Montserrat, S. (2016). Early reduction of *Leishmania infantum*-specific antibodies and blood parasitemia during treatment in dogs with moderate or severe disease. 0
- Spada, J. C. P., da Silva, D. T., Alves, M. L., Cárdenas, N. C., Inlamea, O. F., Faria, G. A., ... Buzetti, W. A. S. (2020). Risk factors associated with leishmania exposure among dogs in a rural area of ilha Solteira, SP, Brazil.
- Tamponi, C., Scarpa, F., Carta, S., Knoll, S., Sanna, D., Gail, C., ... Scala, A. (2021). Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region.
- Troya, A. (2019). *Leishmaniasis, revisión sistemática de datos seroepidemiológicos de zonas endémicas alrededor del mundo*.
- Ushiña, L., Loayza, F., Rivera, R., Villacís, J., Reyes, J., & Garzón, D. (2016). Frecuencia De Leishmaniasis Cutánea En Población No Seleccionada De Residentes De Quito Atendidos En El Laboratorio De Microbiología – Inspi Entre Enero 2014 Y Diciembre 2015.

## ANEXOS

### Anexo 1. Pacientes con lesiones dermatológicas





**Anexo 2. Ficha dermatológica**

FICHA DERMATOLOGICA			HISTORIA CLINICA No			
FECHA			LOCALIDAD			
NOMBRE PROPIETARIO						
NOMBRE PACIENTE			EDAD			
RAZA			SEXO	HEMBRA	MACHO	
PESO	Kg			HEMBRA CASTRADA	MACHO CASTRADO	
CONTACTO CON OTRAS ESPECIES	SI		NO	CUALES		
PRESENCIA ECTOPARASITOS	PULGAS	SI	NO	GARRAPATAS	SI	NO
TRATAMIENTOS ECTOPARASITOS	SI		NO			
PERIODO DE ASEO						
CONDICION CORPORAL	1	2	3	4	5	
EXAMEN FISICO	MUCOSAS		TLLC		FC	
FR		T		C		
LINFONODOS	REAC	SI	NO			
SUBMAXILAR POPLITEO INGUINAL AXILAR						
HABITAT	DENTRO	FUERA	ALIMENTACION	BALANCEADA	CASERA	MIXTA
<b>LESIONES PRIMARIAS</b>						
ALOPECIA	AMPOLLA	COMEDON	ERITEMA			
MACULA	NODULO	PAPULA	VESICULA			
PUSTULA	RONCHA	TUMOR				
<b>LESIONES SECUNDARIAS</b>						
COLLARIN EPIDERMICAS		ABSCESO	COSTRA			
HIPOPIGMENTACION		EROSION	FISTULA			
HIPERPIGMENTACION		CICATRIZ	ULCERA			
HIPERQUERATOSIS		ESCAMA				
LIQUENIFICACION		QUISTE				

### Anexo 3. Toma de muestras



**Anexo 4.****Presencia de Leishmaniosis**

	(n)	(%)	(%) Acumulado
Positivo	14	12,4	12,4
Negativo	99	87,6	100,0
Total	113	100,0	

**Distribución por sexo del canino residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha**

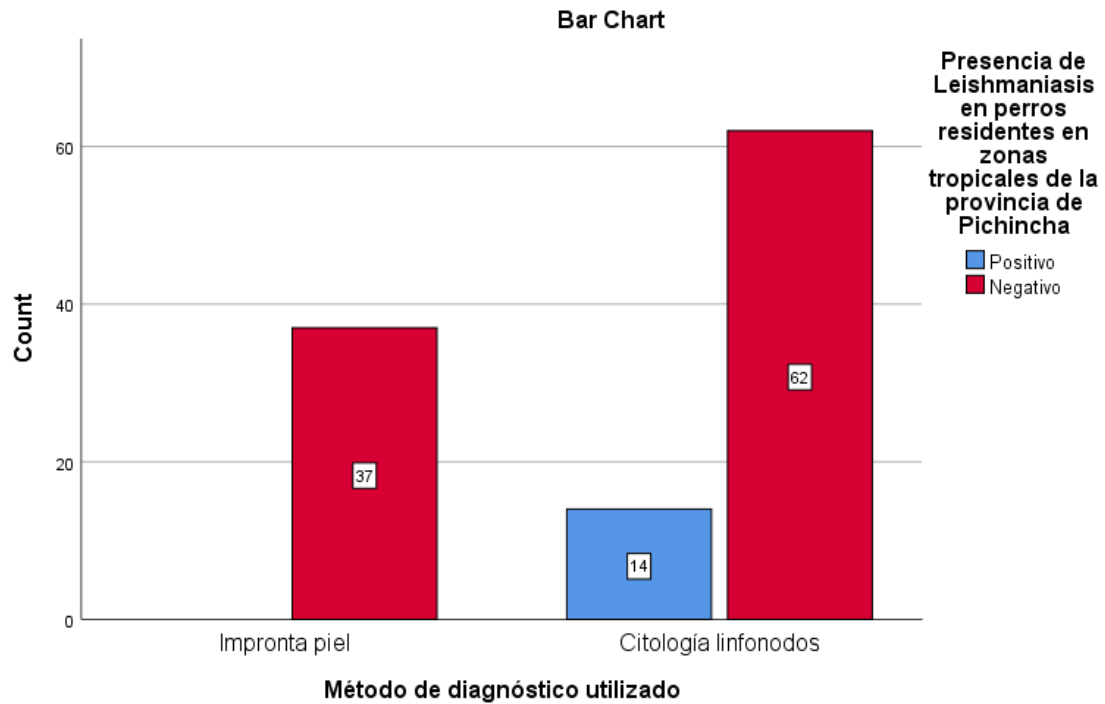
Género	(n)	(%)	(%) Acumulado
Macho	58	51,3	51,3
Hembra	55	48,7	100,0
Total	113	100,0	

**Anexo 5.****Presencia de leishmaniasis vs Método diagnóstico**

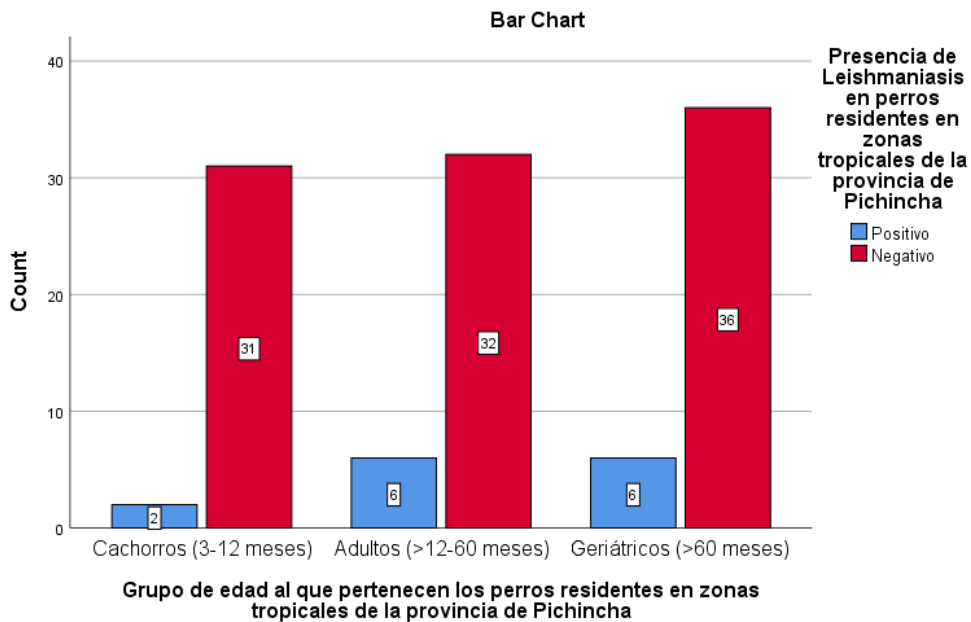
			Presencia de Leishmaniasis en perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha		Total
			Positivo	Negativo	
Método de diagnóstico utilizado	Impronta piel	(n)	0	37	37
		(%) de casos con el método	0,0%	100,0%	100,0%
	Citología linfonodos	(n)	14	62	76
		(%) de casos con el método	18,4%	81,6%	100,0%



### Método de diagnóstico utilizado



### Anexo 6. Clasificación por grupo etario





**Presencia de leishmaniasis vs grupo de edad**

			Presencia de Leishmaniasis en perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha		Total
			Positivo	Negativo	
Grupo de edad al que pertenecen los perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha	Cachorros (3-12 meses)	(n)	2	31	33
		(%) Presencia de leishmaniasis	14,3%	31,3%	29,2%
	Adultos (>12-60 meses)	(n)	6	32	38
		(%) Presencia de leishmaniasis	42,9%	32,3%	33,6%
	Geriátricos (>60 meses)	(n)	6	36	42
		(%) Presencia de leishmaniasis	42,9%	36,4%	37,2%
Total		(n) total	14	99	113
		(%) Presencia de leishmaniasis	100,0%	100,0%	100,0 %



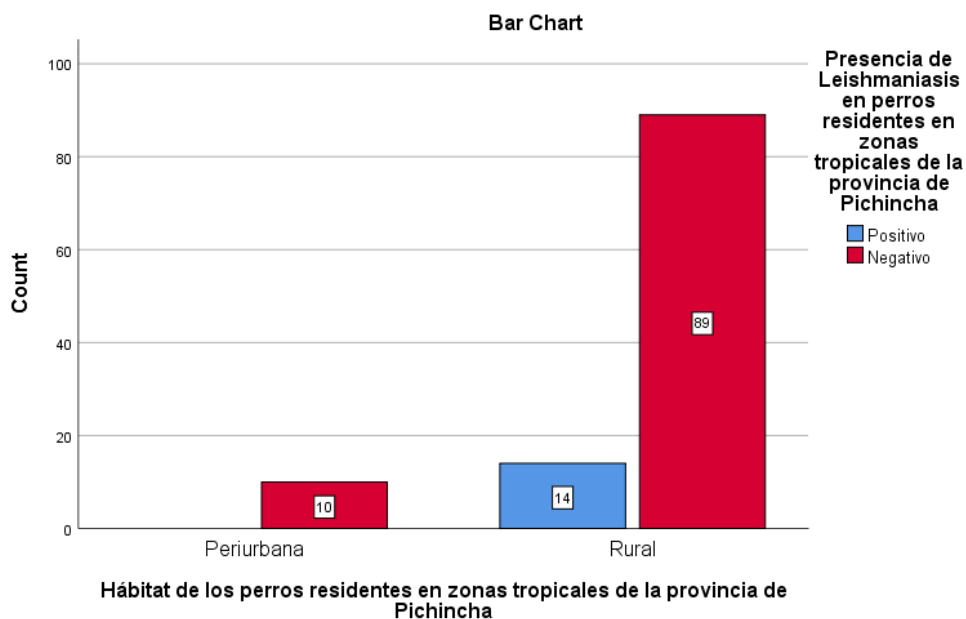


**Anexo 7.**

**Presencia de leishmaniasis vs hábitat**

			Presencia de Leishmaniasis en perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha		Total
			Positivo	Negativo	
Hábitat de los perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha	Periurbana	(n)	0	10	10
		(%) Presencia de leishmaniasis	0,0%	10,1%	8,8%
	Rural	(n)	14	89	103
		(%) Presencia de leishmaniasis	100,0%	89,9%	91,2%
Total		(n) total	14	99	113
		(%) Presencia de leishmaniasis	100,0%	100,0%	100,0%

**Hábitat**



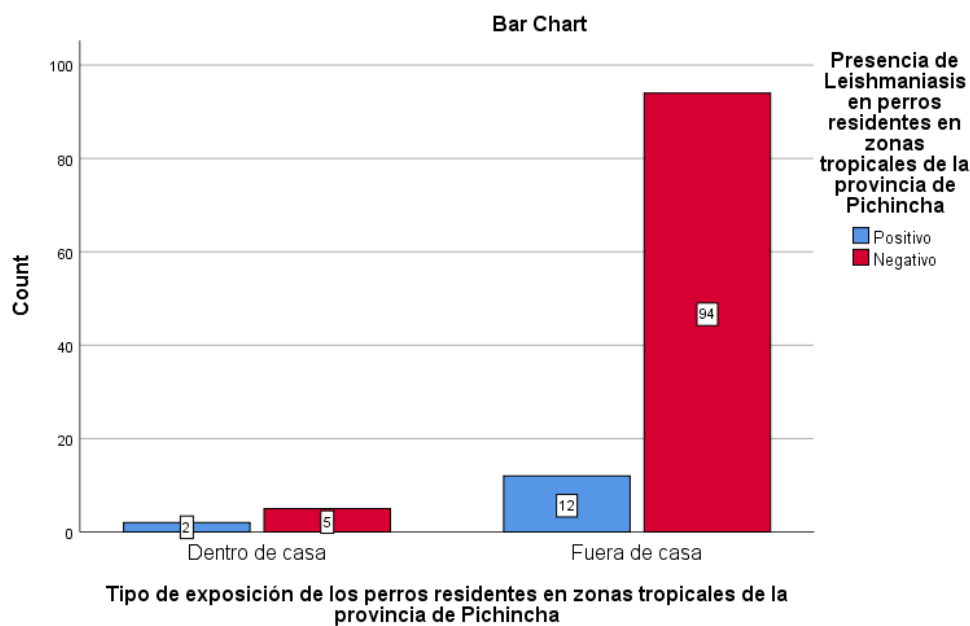


**Anexo 8**

**Presencia de leishmaniasis vs tipo de exposición**

			Presencia de Leishmaniasis en perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha		Total
			Positivo	Negativo	
Tipo de exposición a vectores de los perros residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha	Dentro de casa	(n)	2	5	7
		(%) Presencia de leishmaniasis	14,3%	5,1%	6,2%
	Fuera de casa	(n)	12	94	106
		(%) Presencia de leishmaniasis	85,7%	94,9%	93,8%
Total		(n)	14	99	113
		(%) Presencia de leishmaniasis	100,0%	100,0%	100,0 %

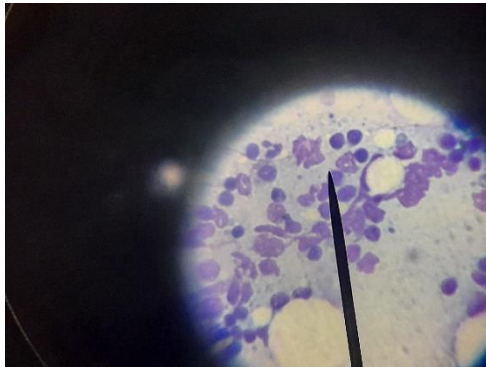
**Tipo de exposición**





**Anexo 9. Caso positivo**

**HC: 039, macho, 2 años, tutor: Larry Jurado**



**Anexo 10. Caso positivo**

**HC: 044, macho, 8 meses, tutor: Silvana Rodríguez**

