



LEISHMANIOSIS FELINA: EPIDEMIOLOGÍA, SIGNOS CLÍNICOS Y ENFOQUE DIAGNÓSTICO

FELINE LEISHMANIOSIS: EPIDEMIOLOGY, CLINICAL SIGNS AND DIAGNOSTIC APPROACH

Aruanai Rivas Estanga ¹, Sergio Villanueva-Saz²

¹MV, Esp, Msc, PhD, DLACVD. Práctica privada, Clínica Veterinaria Real de Azúa, Ciudad de la Costa, Uruguay.

²MV, Msc, PhD. Departamento de Patología Animal y Laboratorio de Inmunopatología Clínica, Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza, España.

Correo para correspondencia: kalu119@gmail.com

Palabras clave: diagnóstico, ELISA, felino, Leishmaniosis, nodular, PCR, ulcerativa, Western blot.

RESUMEN

La leishmaniosis felina se ha incrementado a nivel mundial, las lesiones cutáneas predominan en el cuadro clínico, sin embargo, existe poca información científica sobre el abordaje diagnóstico y terapéutico de los gatos con esta enfermedad y de las distintas especies de *Leishmania* involucradas. Esta enfermedad debe incluirse en la lista de diagnóstico diferencial de lesiones ulcerativas y nodulares en gatos. El presente trabajo se realizó con el propósito de obtener una actualización de los aspectos clínicos, epidemiológicos y diagnóstico de la leishmaniosis felina a partir de la revisión bibliográfica de casos publicados y de la literatura científica veterinaria. La técnica diagnóstica principal en gatos enfermos es el examen citológico o histopatológico junto con la inmunohistoquímica, la técnica serológica ELISA cuantitativa y Western blot. En regiones geográficas donde coexistan varias especies de *Leishmania*, las pruebas serológicas presentaran limitaciones como es el hecho de los fenómenos de reacción cruzada entre las distintas especies de *Leishmania* por lo que será necesario utilizar de forma conjunta la PCR para determinación de la especie y la serología.

Key words: diagnosis, ELISA, feline, Leishmaniosis, nodular, PCR, ulcerative, Western Blot

ABSTRACT

Feline leishmaniosis has increased worldwide, skin lesions predominate in the clinical picture, however, there is little scientific evidence on the diagnostic and therapeutic approach of cats with this disease and of the *Leishmania* species involved. Feline leishmaniosis should be included in the differential diagnosis list for ulcerative and nodular lesions in cats. The present study was carried out with the purpose of obtaining an update of the clinical, epidemiological, and diagnostic aspects of feline leishmaniosis from the bibliographic review of published cases and literature reviews in veterinary medicine. The main diagnostic technique in sick cats is the cytological or histopathological examination together with immunohistochemistry, the quantitative ELISA serological technique and Western blot. In geographic regions where several *Leishmania* species coexist, serological tests will present limitations such as cross-reaction phenomenon between *Leishmania* species, so it will be necessary to combine molecular and serological approach.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniosis es una enfermedad protozoaria producida por unas 20 especies diferentes pertenecientes al género *Leishmania*. Estas infecciones se transmiten al ser humano por la picadura de insectos de la familia *Psychodidae*, género *Phlebotomus* en Europa, Medio Oriente, Asia y África, y por el género *Lutzomyia* en América (1). Algunas especies causan una enfermedad zoonótica y otras antropozoonóticas, estando ampliamente distribuidas en todo el mundo (2).

Además, dependiendo del ciclo de transmisión de la infección, diferentes reservorios juegan un papel importante, entre ellos el perro, pequeños

roedores, lagomorfos, cánidos y félidos salvajes, e incluso el ser humano (3).

La información científica de esta enfermedad en gatos es limitada y existen dificultades en la certeza del diagnóstico, que podrían atribuirse al desconocimiento de los aspectos clínicos y epidemiológicos en la especie felina. El presente trabajo se realizó con el propósito de obtener una actualización de los aspectos clínicos, epidemiológicos y diagnóstico de la leishmaniosis felina a partir de la revisión bibliográfica de casos publicados y de la literatura científica veterinaria.

REVISIÓN DE LITERATURA

CICLO DE TRANSMISIÓN DEL PARÁSITO

Para que el ciclo de transmisión se lleve a cabo es condición *sine qua non* que una hembra del vector contenga formas infectantes del parásito (promastigote metacíclico) y se alimente de la sangre de un mamífero, depositando así al promastigote en la dermis del hospedador (4). Una vez que el promastigote se encuentra dentro del hospedador mamífero, múltiples células del sistema inmunitario, principalmente macrófagos y neutrófilos migrarán hacia el foco inflamatorio fagocitando a los parásitos presentes (figura 1). Los parásitos se transformarán en amastigotes en el interior de las células inflamatorias (5).

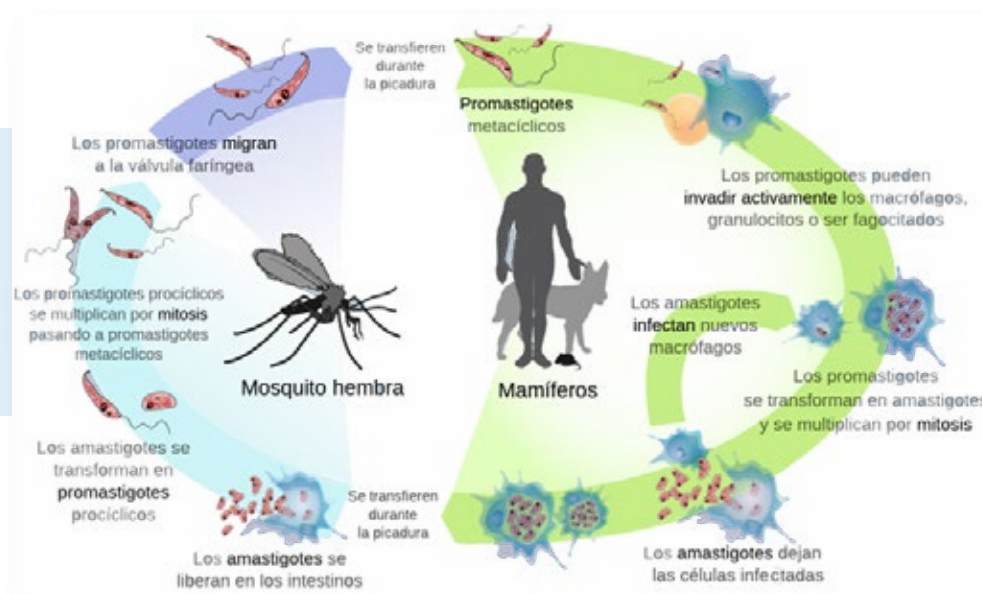


Figura 1. Ciclo de transmisión del parásito (1).

En el interior del macrófago, se formará una vacuola parasitófora, con la finalidad de eliminar al parásito mediante la síntesis y liberación de diversas moléculas con capacidad leishmanicida como el óxido nítrico (NO) entre otras (6). En el caso de que la respuesta fagocítica no sea efectiva, el parásito pondrá en marcha diversos mecanismos de evasión (2).

La ruptura de los macrófagos infectados libera amastigotes, quienes son fagocitados por nuevos macrófagos, de esta forma se propaga la infección. Los amastigotes ingeridos por nuevos insectos que chupan sangre de un hospedero infectado, se transforman en promastigotes en el tracto digestivo del insecto vector, donde permanecen de cuatro a siete días, se diferencian a infectivos, migran hacia la válvula cardíaca y bloquean la proboscis del insecto (1). Otros mecanismos de transmisión que todavía no se han demostrado incluyen la transmisión a través de otros vectores como pulgas y garrapatas (7,8).

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

La leishmaniosis se considera poco frecuente en los gatos, pero se han reportado varios casos en todo el mundo en los últimos años (9). No obstante, la susceptibilidad real de los gatos a la infección por *Leishmania* spp. y el resultado de la leishmaniosis en estos animales es poco conocido y su papel como reservorios aún no está claro (10).

Sin embargo, se han informado casos de enfermedad clínica sistémica e infección subclínica debido a *Leishmania infantum* y otras especies (11). En los gatos, la enfermedad y la infección pueden persistir durante periodos muy largos, por lo tanto, pueden desempeñar algún papel en la transmisión de *L. infantum* en regiones donde muchos gatos están infectados (12).

De acuerdo con el conocimiento actual, algunos autores sostienen que los gatos pueden des-

empeñar un papel como reservorio adicional de *L. infantum*, por lo que recomiendan tomar medidas preventivas (13). Si el reservorio primario está ausente, el gato solo no es responsable de la infección persistente (12,14). El papel epidemiológico del gato en el mantenimiento de la infección por *L. infantum* debería ser investigado (12).

Se han identificado cinco especies dentro del género *Leishmania* que pueden afectar al gato: *Leishmania mexicana* (15) *Leishmania venezuelensis* (16), *Leishmania braziliensis* (17) y *Leishmania amazonensis* (18) en el Nuevo Mundo, y *Leishmania infantum* (19) en el Nuevo y en el Viejo Mundo (tabla 1).

Por lo tanto, es probable que los gatos estén infectados por la misma especie de *Leishmania* que se encuentra en humanos u otros animales (figura 2) en la misma área geográfica (14).

Tabla 1. Especies de *Leishmania* identificadas en gatos en Sudamérica, así como los signos clínicos y las alteraciones de laboratorio asociadas, modificado y actualizado (14).

Especie	País	Signos clínicos	Alteraciones de laboratorio	Referencias
<i>Leishmania amazonensis</i>	Brasil (Estado de Mato Grosso do Sul)	Lesiones nodulares y ulcerativas múltiples y/o solitarias.	Sin hallazgos relevantes	(18)
<i>Leishmania braziliensis</i>	Brasil (Belo Horizonte)	Lesiones nodulares y ulcerativas múltiples y/o solitarias.	Sin hallazgos relevantes	(20) (17)
<i>Leishmania infantum</i>	Brasil (Cotia, Estado de São Paulo) Brasil (Rio de Janeiro) Brasil (Andradina, Estado de São Paulo) Brasil (Araçatuba, Estado de São Paulo)	Lesiones nodulares y ulcerativas múltiples y/o solitarias, dermatitis exfoliativa, pápulas hemorrágicas. Signos sistémicos: ictericia, hepatomegalia, esplenomegalia, poliuria, polidipsia, caquexia, fiebre, vómito, diarrea, anorexia, signos oculares, lesiones orales, letargia	Anemia no regenerativa, pancitopenia, linfocitosis relativa, hiperproteinemia con hipergammaglobulinemia policlonal, proteinuria, aumento de creatinina, aumento de ALT	(21) (22) (23) (24) (25)
<i>Leishmania venezuelensis</i>	Venezuela Barquisimeto, estado Lara	Lesiones nodulares y ulcerativas múltiples y/o solitarias	Sin hallazgos relevantes	(26)
<i>Leishmania mexicana</i>	Venezuela Barquisimeto, Quibor, estado Lara	Lesiones nodulares y ulcerativas múltiples y/o solitarias	Sin hallazgos relevantes	(15)



Figura 2. Distribución geográfica de las áreas endémicas de leishmaniosis en personas, perros y gatos en Sudamérica, modificado de (27).

RESPUESTA INMUNITARIA

Existen pocos estudios sobre los aspectos inmunológicos de la leishmaniosis felina (13). La respuesta inmunitaria es principalmente de tipo celular, siendo lo suficientemente efectiva como para controlar la infección y conferir un cierto grado de resistencia natural, si no hay eventos inmunosupresores tales como enfermedad viral, bacteriana, rickettsial, fúngica o protozoaria (19). Recientes estudios, sugieren que la respuesta inmunitaria del gato frente a *L. infantum* es muy similar a la generada por el perro, en el que se detecta específicamente la producción de citocinas de relevancia como el interferón-gamma (28). Sin embargo, a diferencia de los perros, los gatos se consideran más resistentes a la infección (19).

ALTERACIONES CLÍNICO-PATOLÓGICAS

La información sobre anomalías clínico-patológicas en gatos con infección por *L. infantum*, se basa en informes de casos (tabla 1). La anemia normocítica normocrómica moderada a grave no regenerativa es la anomalía hematológica más frecuente notificada en casos clínicos (14). A nivel bioquímico, una de las principales alteraciones que se detecta es la elevación de las proteínas totales asociado con el incremento de las globulinas. La relación de un perfil electroforético de las proteínas séricas permite detectar una gammopatía de tipo policlonal (figura 3), debido a la estimulación de diferentes clones de células plasmáticas (29).

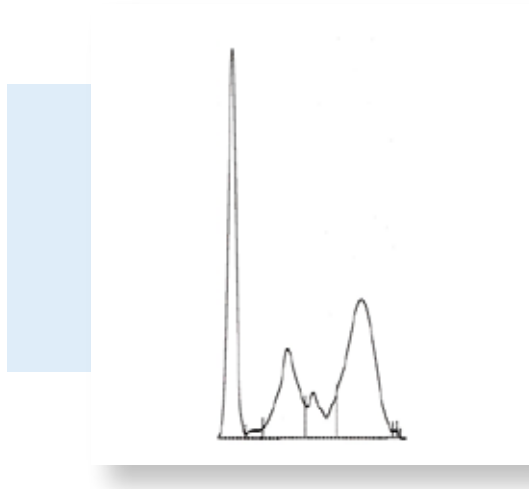


Figura 3. Electroforesis de las proteínas séricas de un gato con leishmaniosis clínica producida por *L. infantum*. Se detecta la presencia de una gammopatía de tipo policlonal.

SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos más comunes por *L. infantum* incluyen lesiones cutáneas o mucocutáneas, nódulos de tamaño variable que pueden estar ulcerados, localizados en cabeza, párpado, nariz, labio, zona distal de los miembros o mucosa anal, sin dolor o prurito (30), (Figura 3-a).

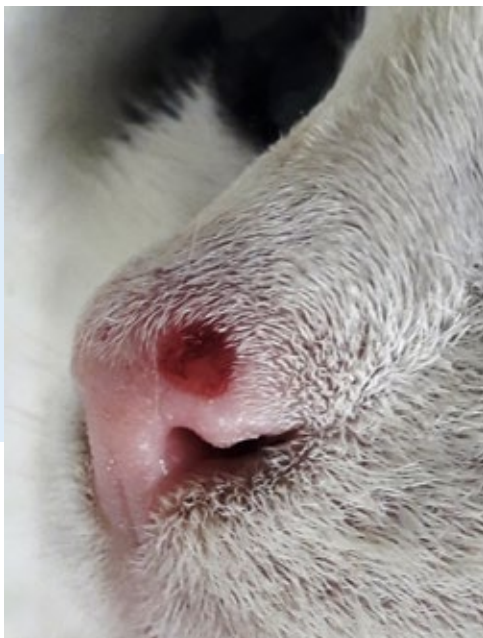


Figura 3-a. Gato con lesión ulcerativa en plano nasal producida por *L. infantum*.

La infección en gatos puede ser promovida por procesos inmunosupresores como el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV), el virus de la leucemia felina (FeLV) y *Toxoplasma gondii* (31). Por otro lado, existen evidencias que indican que también los gatos infectados pueden desarrollar la enfermedad en ausencia de factores o enfermedades inmunosupresoras (32).

Los signos clínicos de leishmaniosis causada por otras especies de *Leishmania* distribuidas geográficamente en Sudamérica (tabla 1) tales como; *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. venezuelensis* se observan en la zona donde ocurrió la picadura del mosquito (figura 4-a,4-b, 5-a,5-b, 6 y 7), generalmente se presentan en la nariz, orejas y la región perineal que son las regiones del cuerpo donde los animales tienen menos pelo, en estos casos no hay evidencia de alteraciones sistémicas, las lesiones son nodulares en ocasiones pueden ulcerarse, así como también pueden observarse placas (9,11,15,26,33).

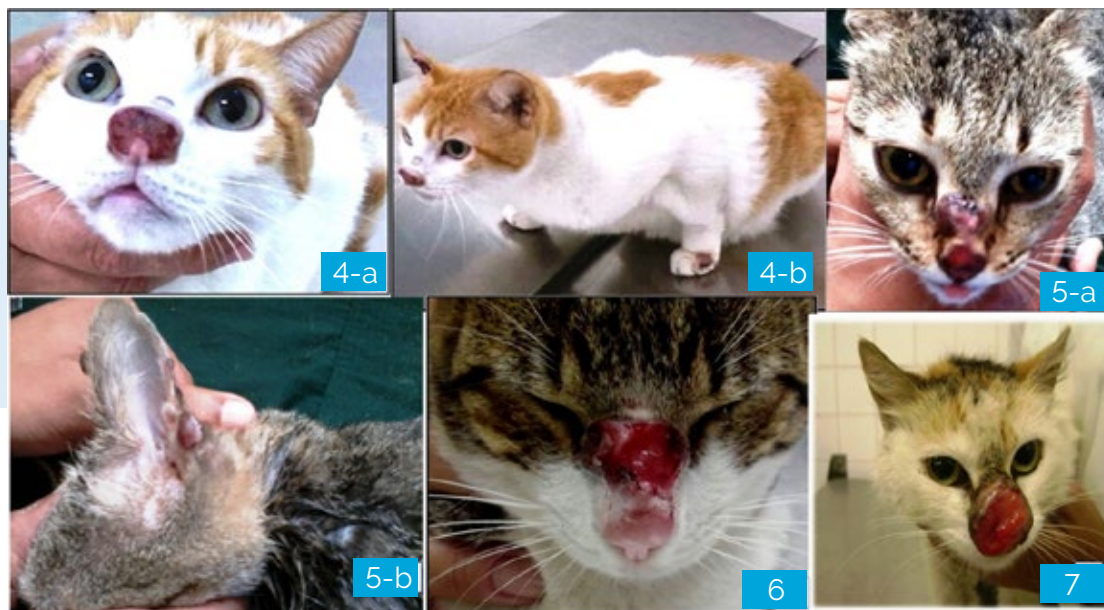


Figura 4-a,4-b, 5-a,5-b, 6 y 7. Gatos con lesiones nodulares y ulcerativas procedentes del Estado Lara-Venezuela, investigaciones previas sugieren que de acuerdo a la distribución geográfica y resultados de pruebas serológicas y moleculares estas lesiones pueden ser ocasionadas por *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. venezuelensis* es probable que la *L. venezuelensis* sea una variante de la *L. mexicana* (15,26,34).

Predisposición de raza, género, edad y condiciones de vida

Las evidencias científicas que evalúen estos factores en el gato son limitadas, así como también con otras especies de *Leishmania* (35). Estudios previos, no han encontrado una asociación clara entre la infección por *L. infantum* en gatos y otros factores como la edad, el género, la raza y las condiciones de vida (36,37).

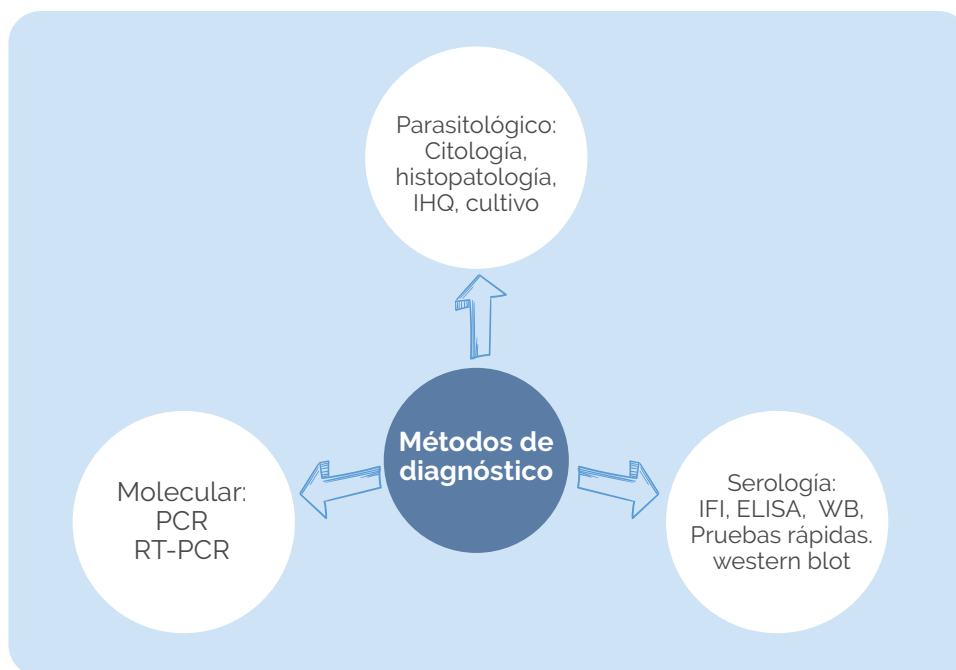
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La leishmaniosis felina con independencia de la especie responsable suele producir afectación de tipo cutáneo. Entre los diagnósticos diferenciales se deberían incluir:

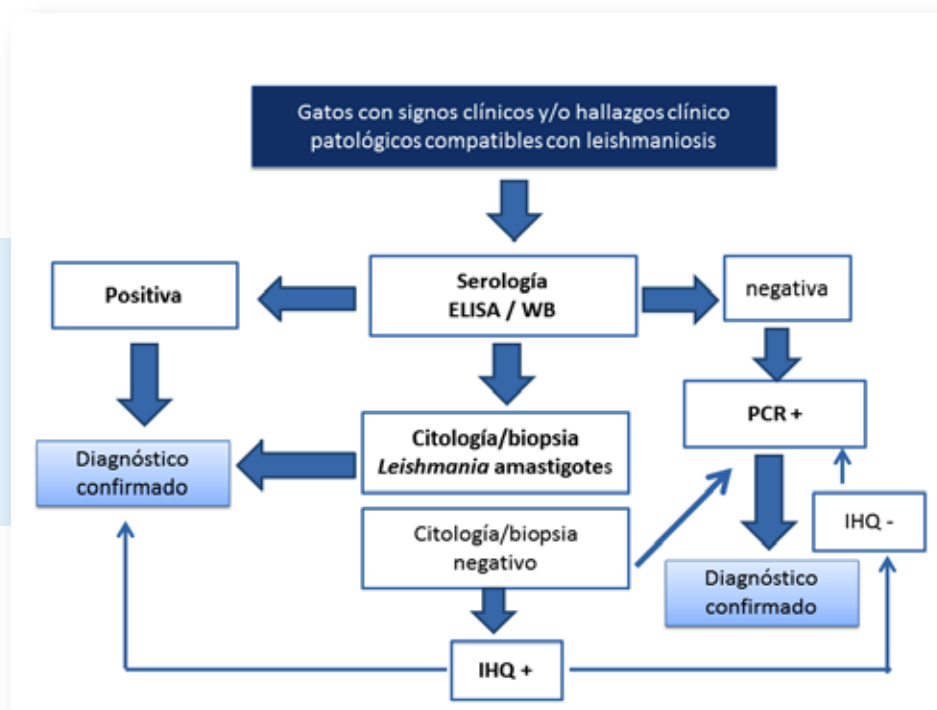
- Forma nodular: criptocosis, esporotricosis, histoplasmosis, granuloma estéril/eosinofílico, micobacteriosis, neoplasia cutánea (14).
- Forma ulcerativa: neoplasia cutánea, úlcera indolente, hipersensibilidad a la picadura de mosquito, lepra felina, vasculitis cutánea, dermatitis ulcerativa idiopática (14).

MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR LEISHMANIA

Dentro del amplio abanico de pruebas diagnósticas disponibles para confirmar la infección, éstas pueden ser clasificadas en pruebas basadas en el diagnóstico parasitológico, pruebas basadas en el diagnóstico serológico y aquellas relacionadas con el diagnóstico molecular (Gráfica 1, Gráfica 2). Estas han sido descritas para el diagnóstico de la leishmaniosis canina (38).



Gráfica 1. Métodos de diagnóstico más frecuentes utilizados en la leishmaniosis canina. (38). IFI: inmunofluorescencia indirecta, ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, WB: Western blot, PCR: reacción en cadena de polimerasa, RT-PCR: PCR en tiempo real, IHQ: inmunohistoquímica.



Gráfica 2. Algoritmo para el diagnóstico de leishmaniosis en gatos modificado de (38). ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, WB: Western blot, PCR: reacción en cadena de polimerasa, IHQ: inmunohistoquímica

Pruebas para el diagnóstico parasitológico

Para la confirmación de la infección por *Leishmania* se puede realizar la visualización de parásitos por microscopía en un frotis (figura 7), como aspirado esplénico, médula ósea o biopsia hepática para leishmaniosis visceral, y raspados, líquido o punción aspiración aguja fina (PAAF) de lesiones cutáneas (39).

Un resultado positivo mediante la detección directa del parásito en un animal sospechoso confirma el diagnóstico de leishmaniosis canina, no obstante, un resultado negativo no permite descartar la enfermedad. Por otro lado, la sensibilidad de esta técnica disminuye considerablemente en perros sin signos clínicos de enfermedad (38).

Otra prueba de diagnóstico parasitológico es el estudio histopatológico (figura 7). Estudios previos sobre la infección por *L. infantum* en caninos describen que la piel es un tejido diana importante don-

de pueden encontrarse un importante número de parásitos en animales clínicamente sospechosos. La imagen histológica de tales lesiones cutáneas comúnmente consiste en una reacción inflamatoria granulomatosa difusa con números variables de células plasmáticas y parásitos en la dermis (40,41).

En ocasiones, el patrón histológico observado se corresponde con el producido por *Leishmania*; sin embargo, en los casos que no es posible detectar ningún amastigote en las preparaciones, por lo que será necesario la combinación del estudio histopatológico junto con la técnica de inmunohistoquímica específica para detectar *Leishmania* (figura 7), consiguiendo de esta forma incrementar la sensibilidad del diagnóstico (40). Los métodos inmunohistoquímicos son una herramienta para caracterizar el patrón histológico con la cantidad de amastigotes presentes en el tejido evaluado (42).

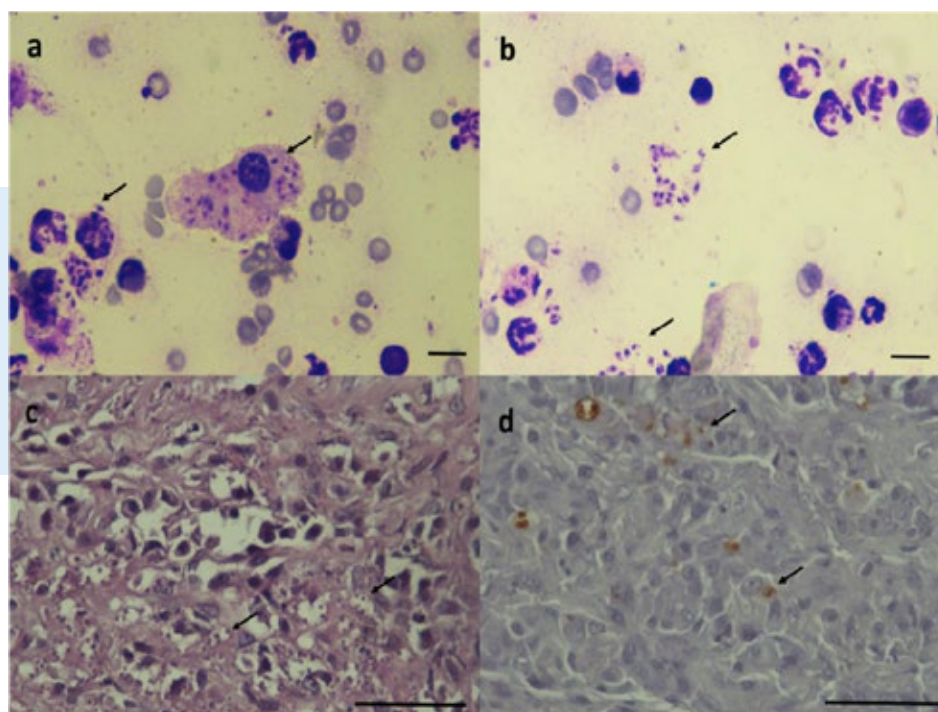


Figura 7a,7b: Citología de la lesión cutánea de los gatos de la figura 4,5, y 6 se observan numerosos amastigotes de *Leishmania* sp. intra y extracelular (flechas), tinción Diff-quick 100x. **7c:** Imagen histológica de los gatos con lesiones nodulares-ulcerativas en nariz, se observa infiltrado inflamatorio difuso y con abundantes amastigotes (flechas), tinción H&E, 40x. **7d:** Inmunohistoquímica se observa un gran número de amastigotes intramacrofágicos teñidos en marrón (flechas), 40x. (15).

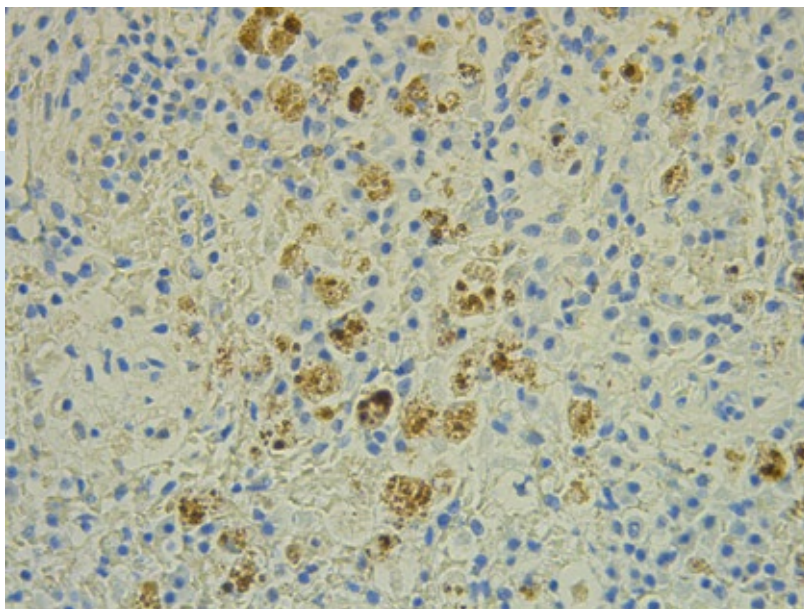


Figura 7e: Inmunohistoquímica específica de *Leishmania* de linfonodo. La presencia del parásito se observa en forma de marcaje marrónáceo.

Técnicas serológicas

Las técnicas serológicas cuantitativas permiten la cuantificación de los niveles de anticuerpos anti-*Leishmania* circulantes. En el caso de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), ésta permite dar un título de anticuerpos, aunque su sensibilidad puede disminuir considerablemente en perros infectados subclínicos (43).

La técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), trabaja con densidades ópticas, de forma que puede ser utilizada como referencia para la clasificación de los niveles de anticuerpos anti-*Leishmania* (figura 8). Generalmente, en aquellos perros o gatos en los que se detecte altos niveles de anticuerpos anti-*Leishmania* (considerado un valor 3-4 veces superior al punto de corte de la prueba serológica cuantitativa), este resultado será concluyente para confirmar el diagnóstico de leishmaniosis canina y felina (15,44).



Figura 8: ELISA. Se observa la presencia de pocillos con presencia de color en la columna 8 para *L. infantum* en muestras de gatos. La intensidad colorimétrica guarda relación directa con el nivel de anticuerpos anti-*Leishmania* presente en la muestra de suero.

En general, los anticuerpos anti-*Leishmania* deberían ser siempre evaluados por laboratorios usando métodos serológicos validados para gatos (14). Además, se ha demostrado que la técnica Western blot (figura 9) tiene ventajas sobre otras pruebas serológicas por su capacidad de detectar infecciones tempranas o subclínicas tanto en perros como en gatos (45-47)

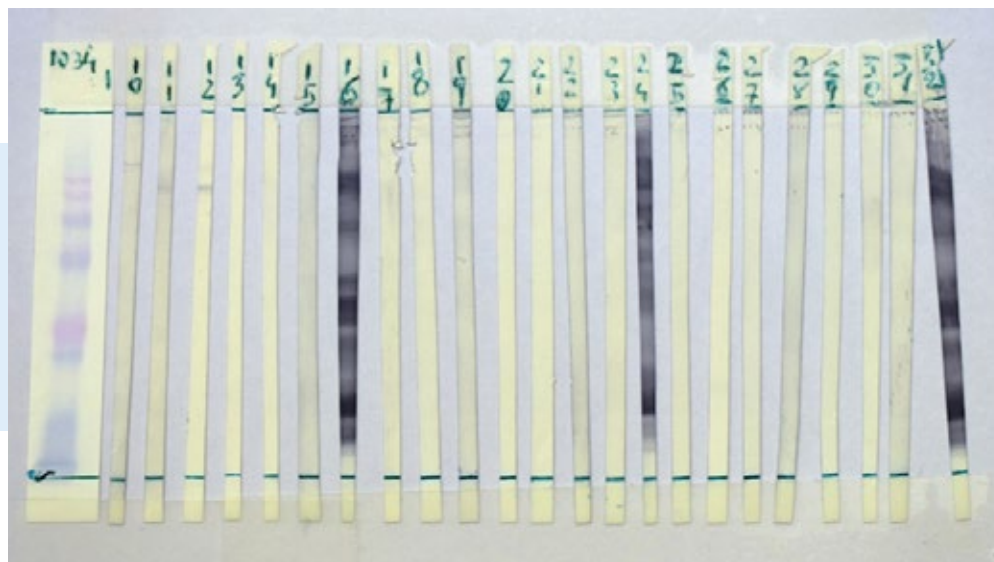


Figura 9. Western Blot. Resultado positivo para 3 muestras (marcaje oscuro).

Finalmente es importante recalcar que en aquellas regiones geográficas donde coexistan varias especies de *Leishmania*, las pruebas serológicas presentaran limitaciones como es el hecho de los fenómenos de reacción cruzada entre especies ("cross-reaction") por lo que será necesario utilizar de forma conjunta la PCR (determinación de la especie) y la serología (48,49).

Pruebas moleculares

Esta técnica presenta una elevada sensibilidad y especificidad (50). Asimismo, también permite determinar la especie de *Leishmania* involucrada (51,52).

La detección del ADN puede basarse del ADN procedente del kinetoplasto o bien del propio ADN genómico de *Leishmania*, aunque la detección del ADN del kinetoplasto puede resultar en un incremento de la sensibilidad de dicha prueba cuando se compara con la detección del ADN genómico (44).

La sensibilidad de la técnica varía dependiendo del tipo de muestra analizada, siendo los tejidos más sensibles y específicos para la detección de ADN del parásito la médula ósea, el bazo y la piel. Por el contrario, la extracción de ADN procedente de la sangre da como resultado una menor sensibilidad de la prueba (50)

TRATAMIENTO

En los gatos con infección por *L. infantum*, la información disponible sobre el tratamiento se basa principalmente en informes de casos únicos, no siempre con un seguimiento adecuado. El fármaco más utilizado en el tratamiento de la leishmaniosis felina producida por *L. infantum* es el alopurinol, siendo su administración a largo plazo en diferentes pautas posológicas (5-10-15 mg/kg/12 horas, 20 mg/kg/24 h, 25 mg/gato/12 h, 100 mg/gato/24 h suele ser clínicamente efectiva, incluso en gatos FIV-positivos. Sin embargo, la infección no desapa-

rece y los signos clínicos pueden reaparecer después de suspender el tratamiento (53).

Puede realizarse combinación de fármacos similar al perro con una dosis de antimonio de meglumina de 50 mg/kg una vez al día, vía subcutánea, por 30 días + alopurinol 10 mg/kg cada 12 horas por vía oral a largo plazo (54). La utilización de la Milteforan® (fármaco cuyo principio activo es la miltefosina) podría estar contraindicado porque contiene en sus excipientes propilenglicol, sustancia que propicia la formación de cuerpos de Heinz y una disminución de la vida media de los eritrocitos felinos (13) .

El pronóstico es variable, dependiendo de la respuesta inmunitaria del gato y existe la posibilidad de recidivas tanto en gatos inmunocompetentes como inmunodeprimidos o con enfermedades concomitantes. Es importante recalcar que los gatos con leishmaniosis clínica y con presencia de enfermedades inmunosupresoras parecen tener menor vida media de supervivencia en comparación a los gatos sin enfermedades concomitantes o inmunosupresión conocida (29).

MEDIDAS DE PREVENCIÓN

Control vectorial:

- Mantener los animales en el interior durante la temporada del vector, desde el atardecer hasta el amanecer.
- Reducir los microhábitats favorables a los mosquitos en las proximidades de la casa o en lugares donde el perro o gato pasa tiempo.
- Uso del tratamiento insecticida ambiental.
- Uso de insecticidas tópicos.

Se ha realizado un primer estudio en el cual se evaluó una estrategia preventiva contra la infección felina por *Leishmania*, y se demostró que el collar, cuyo principio activo es 10% de imidacloprid + 4.5% de flumetrina, redujo significativamente el riesgo de infección por *L. infantum* en gatos. Estos hallazgos cierran un vacío en la medicina veterinaria, ya que confirman este collar como una herramienta, reduciendo el riesgo de infección por *Leishmania* en gatos y podría contribuir a la reducción del riesgo de la enfermedad en animales y en poblaciones humanas cuando se incluye en programas integrados de control de leishmaniosis (55)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Oletta A, Peña S. Leishmaniasis Consideraciones generales y epidemiológicas. Alerta epidemiológica N° 195. 2011;1-30.
2. Alvar J, Vélez I, Bern C, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS ONE. 2012;7(5).
3. Pace D. Leishmaniasis. J Infect. 2014;xx:1-9.
4. Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2004;27(5):305-18.
5. Moradin N, Descoteaux A. Leishmania promastigotes: building a safe niche within macrophages. Front Cell Infect Microbiol. 2012;2:1-7.
6. Zafra R, Jaber J, Pérez-Écija R, et al. High iNOS expression in macrophages in canine leishmaniasis is associated with low intracellular parasite burden. Vet Immunol Immunopathol. 2008;123(3-4):353-9.
7. Dantas-Torres F. Ticks as vectors of Leishmania parasites. Trends Parasitol. 2011;27(4):155-9.
8. Morais R, Gonçalves-de-Albuquerque S, Silva RôP, et al. Detection and quantification of Leishmania braziliensis in ectoparasites from dogs. Vet Parasitol. 2013;196(3-4):506-8.
9. Mattos L, Mattos M, Teixeira M, et al. The susceptibility of domestic cats (Felis catus) to experimental infection with Leishmania braziliensis. Vet Parasitol. 2005;127(3-4):199-208.
10. Rougeron V, Catzeflis F, Hide M, et al. First clinical case of cutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Viannia) braziliensis in a domestic cat from French Guiana. Vet Parasitol. 2011;181(2-4):325-8.
11. Shaw S, Birtles R, Day M. Arthropod-transmitted infectious diseases of cats. J Feline Med Surg. 2001;3(4):193-209.
12. Maia C, Campino L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis ?. Trends Parasitol. 2011;27(8):341-4.
13. Pennisi M, Persichetti M. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog?. Vet Parasitol. 2018;251:131-7.
14. Pennisi M, Cardoso L, Baneth G, et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. Parasit Vectors. 2015;8:1-18.
15. Rivas A, Alcover M, Martínez-orellana P, et al. Clinical and diagnostic aspects of feline cutaneous leishmaniosis in Venezuela. Parasit Vectors. 2018;11(141):1-14.
16. Bonfante-Garrido, Barroeta M, H M, Cupolillo E. Cutaneous leishmaniasis in western Venezuela caused by infection with Leishmania venezuelensis and L. braziliensis variants. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992;86(2):141-8.
17. Schubach T, Figueiredo F, Pereira S, et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: First report of natural infection with Leishmania (Viannia) braziliensis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2004;98(3):165-7.
18. De Souza A, Barros E, Ishikawa E, et al. Feline leishmaniasis due to Leishmania (Leishmania) amazonensis in Mato Grosso do Sul State, Brazil. Vet Parasitol. 2005;128(1-2):41-5.
19. Solano-Gallego L, Rodríguez-Cortés A, Iniesta L, et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. Am J Trop Med Hyg. 2007;76(4):676-80.
20. Passos V, Lasmar E, Gontijo C, et al. Natural infection of a domestic cat (Felis domesticus) with Leishmania (Viannia) in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91(1):19-20.
21. Savani E, De Oliveira Camargo M, De Carvalho M, et al. The first record in the Americas of an autochthonous case of Leishmania (Leishmania) infantum chagasi in a domestic cat (Felis catus) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. Vet Parasitol. 2004;120(3):229-33.
22. Da Silva A, de Souza Cândido C, de Pita Pereira D, et al. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. Acta Trop. 2008;105(1):92-4.
23. Coelho W, Richini-Pereira V, Langoni H, et al. Molecular detection of Leishmania sp. in cats (Felis catus) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. Vet Parasitol. 2010; 176(2-3):281-2.
24. Coelho W, Lima V de, Amarante A do, et al. Occurrence of Leishmania (Leishmania) chagasi in a domestic cat (Felis catus) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. Rev Bras Parasitol Veterinária. 2010;19(4):256-8.
25. Metzendorf I, da Costa Lima M, de Fatima Cepa Matos M, et al. Molecular characterization of Leishmania infantum in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. Acta Trop. 2017;166:121-5.

26. Bonfante-Garrido, Urdaneta-I, Urdaneta-R, et al. Natural infection of cats with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991;1(85):53.
27. Dantas-Torres F. Canine leishmaniosis in South America. *Parasit Vectors.* 2009;2 Suppl 1:S1
28. Priolo V, Martínez-Orellana P, Pennisi M, et al. *Leishmania infantum*-specific IFN- production in stimulated blood from cats living in areas where canine leishmaniosis is endemic. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):1–9.
29. Fernandez-Gallego A, Feo Bernabe L, Dalmau A, et al. Feline leishmaniosis: diagnosis, treatment and outcome in 16 cats. *J Feline Med Surg.* 2020;22(10):993–1007.
30. Abramo F, Albanese F, Gattuso S, et al. Skin lesions in feline leishmaniosis: A systematic review. *Pathogens.* 2021;10(4).
31. Sobrinho L, Rossi C, Vides J, et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 2012;187(1–2):302–6.
32. Brianti E, Celi N, Napoli E, et al. Treatment and long-term follow-up of a cat with leishmaniosis. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):1–7.
33. Velez D, Carrillo L, López L, et al. An Epidemic Outbreak of Canine Cutaneous Leishmaniasis in Colombia Caused by *Leishmania braziliensis* and *Leishmania panamensis*. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(61):807–11.
34. Kato H, Watanabe J, Mendoza I, et al. *Leishmania* species identification using FTA card sampling directly from patients' cutaneous lesions in the state of Lara, Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011;105(10):561–7.
35. Pennisi M, Cardoso L, Baneth G, et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit Vectors* 2015; 302.
36. Dedola C, Zobba R, Varcasia A, et al. Serological and molecular detection of *Leishmania infantum* in cats of Northern Sardinia, Italy. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* 2018;13:120–3.
37. Cardoso L, Lopes A, Sherry K, et al. Low seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on DAT and ELISA. *Vet Parasitol.* 2010;174(1–2):37–42.
38. Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors.* 2011;4:86.
39. Stockdale L, Newton R. A Review of Preventative Methods against Human Leishmaniasis Infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(6):1–4.
40. Solano-Gallego L, Fernández-Bellón H, Morell P, et al. Histological and immunohistochemical study of clinically normal skin of *Leishmania infantum*-infected dogs. *J Comp Pathol.* 2004;130(1):7–12.
41. Ordeix L, Solano-Gallego L, Fondevila D, et al. Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses. *Vet dermatology.* 2005;16(3):187–91.
42. Salguero F, Garcia-Jimenez W, Lima I, et al. Histopathological and immunohistochemical characterisation of hepatic granulomas in *Leishmania donovani*-infected BALB/c mice: A time-course study. *Parasit Vectors.* 2018;11(1):1–9.
43. Solano-Gallego L, Villanueva-Saz S, Carbonell M, et al. Serological diagnosis of canine leishmaniosis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan®, ID Screen® and *Leishmania* g6®), a rapid test (Speed Leish K®) and an in-house IFAT. *Parasit Vectors.* 2014;7:1–10.
44. Solano-Gallego L, Cardoso L, Pennisi M, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.* 2009;165:1–18.
45. Aisa et al. Diagnostic potential of western blot analysis of sera from dogs with leishmaniasis in endemic areas and significance of the pattern. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;58(2):154–9.
46. Trevisan D, Lonardoni M, Demarchi I. Diagnostic methods to cutaneous leishmaniasis detection in domestic dogs and cats. *An Bras Dermatol.* 2015;90(6):868–72.
47. Persichetti M, Solano-Gallego L, Vullo A, et al. Diagnostic performance of ELISA, IFAT and Western blot for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in cats using a Bayesian analysis without a gold standard. *Parasit Vectors.* 2017;10(119):1–8.

48. Oliva G, Scalone A, Manzillo V, et al. Incidence and Time Course of *Leishmania infantum* Infections Examined by Parasitological , Serologic , and Nested-PCR Techniques in a Cohort of Naive Dogs Exposed to Three Consecutive Transmission Seasons. *J Clin Microbiol*. 2006;44(4):1318–22.
49. Rivas A, Alcover M, Martínez-Orellana P, et al. Serological and molecular survey of *Leishmania* infection in dogs from Venezuela. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2020;21:100420.
50. Braga A, Langoni H, Lucheis S. Evaluation of canine and feline leishmaniasis by the association of blood culture, immunofluorescent antibody test and polymerase chain reaction. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2014;20(1):5.
51. Paulo S. Genotype Characterization of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* isolated from human. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015;57(3):257–62.
52. Carvalho Ferreira A, Carregal V, De Almeida Ferreira S, et al. Detection of *Leishmania infantum* in 4 different dog samples by real-time PCR and ITS-1 nested PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78(4):418–21.
53. Pennisi M, Hartmann K, Lloret A, et al. Leishmaniosis in cats ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surgery*. 2013;15(368):638–42.
54. Basso M, Marques C, Santos M, et al. Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl- glucamine antimoniate. *JFMS Open Rep*. 2016;2(1):1–7.
55. Brianti E, Falsone L, Napoli E, et al. Prevention of feline leishmaniosis with an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% polymer matrix collar. *Parasit Vectors*. 2017;10(1):1–8.