



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Frecuencia de leishmaniasis en *canis lupus familiaris* “perro doméstico” en un
albergue en Croacia – región de Dalmacia, período 2019-2021

TESIS

Para optar el título profesional de Médica Veterinaria

AUTOR(A)

Turcarelli Rodríguez, Alessandra Andrea

(ORCID: 0000-0002-4651-6948)

ASESOR(A)

Alvarez Begazo de Jara, Verónica

(ORCID: 0000-0001-5585-5557)

Lima, Perú

2022

Metadatos Complementarios

Datos de autor

Turcarelli Rodríguez, Alessandra Andrea

Tipo de documento de identidad del AUTOR: DNI

Número de documento de identidad del AUTOR: 74044754

Datos de asesor(a)

Alvarez Begazo de Jara, Verónica

Tipo de documento de identidad del ASESOR: DNI

Número de documento de identidad del ASESOR: 40140168

Datos del jurado

PRESIDENTE: Leguía Puente, Guillermo Manuel

DNI: 06603766

ORCID: 0000-0002-8787-6595

MIEMBRO: Pauta Gálvez, Mario Martin

DNI: 45868433

ORCID: 0000-0001-6388-2061

MIEMBRO: Iannacone Oliver, José Alberto

DNI: 09413998

ORCID: 0000-0003-3699-4732

Datos de la investigación:

Campo del conocimiento OCDE: 4.03.01

Código del Programa: 841016

DEDICATORIA

A mis padres Cecilia y Stefano, por otorgarme siempre su apoyo incondicional y por creer en mí todos los días.

A mi hermano Stefano, por siempre estar dispuesto a ayudarme en cualquier situación.

A y a mi tía Juanita, que en paz descanse, ya que gracias a ella tuve la motivación de estudiar esta carrera.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por darme tanto cariño siempre.

A mi hermano, por darme aliento cada vez que lo requería.

A mi abuelo, por ser una fuente de sabiduría y por creer en mí.

A mi tía Juanita por cuidarme desde pequeña y siempre haber estado presente.

A mi asesora Verónica Álvarez, por brindarme ayuda y consejos durante todo el proceso de realización del presente estudio

Al director del albergue Zvonimir Filipović, por permitirme recolectar los datos que necesitaba y por brindarme su amistad.

A mis jurados, por guiarme y exigir lo mejor de mí.

A mis amigos, por regalarme anécdotas durante todos los años de la carrera.

A los docentes de la Escuela Profesional de Ciencias Veterinarias, por tenernos tanta paciencia y compartir sus conocimientos con nosotros.

ÍNDICE

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE	5
RESUMEN	8
ABSTRACT.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	10
Planteamiento del problema	12
Justificación de la investigación.....	14
Objetivo General	16
Objetivos Específicos.....	16
II. MARCO TEÓRICO	17
1. El perro como mascota.....	17
1.1. Tenencia responsable	18
1.2. Perros callejeros	19
1.3. Albergues de animales	20
1.4. Situación en Croacia	22
2. Enfermedades transmisibles por vectores	23
2.1. Leishmaniasis.....	23
2.1.1. Agente causal.....	23
2.1.2. Distribución	24

2.1.3.	Transmisión	25
2.1.4.	Ciclo biológico	26
2.1.5.	Fisiopatología	27
2.1.6.	Signos clínicos	29
2.1.7.	Factores predisponentes.....	30
2.1.8.	Diagnóstico.....	31
2.1.9.	Tratamiento.....	33
2.1.10.	Medidas de control y prevención.....	35
III.	ANTECEDENTES	37
IV.	HIPÓTESIS.....	41
	Hipótesis General	41
	Hipótesis específicas	41
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
	Lugar de Ejecución.....	43
	Tipo de Investigación	43
	Variables independientes.....	43
	Variable dependiente.....	44
	Operacionalización de las variables	44
	Muestreo.....	45
	Procedimientos y Análisis de Datos.....	46
	Aspecto ético	46

VI. RESULTADOS.....	47
VII. DISCUSIÓN	50
VIII. CONCLUSIONES	57
IX. RECOMENDACIONES.....	59
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
XI. ANEXOS	68
Anexo 1. Cantidad de la población por año, según el sexo; y la edad promedio, representada en meses.	68
Anexo 2. Cantidad de la población por estación, según el sexo; y la edad promedio, representada en meses.	69
Anexo 3. Cantidad de la población, según sexo; y la edad promedio, representada en meses.	70
Anexo 4. Consentimiento informado	71

RESUMEN

Se realizó un estudio cuyo propósito fue determinar la frecuencia de Leishmaniasis canina en perros doméstico (*Canis lupus familiaris*) en un albergue en la región de Dalmacia, en Croacia, periodo 2019-2021. Se recopilaron los datos de 197 historias clínicas registradas en la base de datos del albergue Beštie ubicado en el centro poblado de Kaštel Sućurac. Aplicando una metodología de tipo descriptiva, retrospectiva, y transversal de los registros analizados. Se utilizó instrumentos digitales para procesar los datos a través de cuadros de frecuencia. Los resultados revelaron una frecuencia total, de todo el periodo de estudio, del 5,58%, siendo el año con mayor frecuencia el 2020 (10,84%), sin diferencias estadísticamente significativas entre los años estudiados. Asimismo, primavera fue la estación más predominante, con 11,27% de caninos positivos a Leishmaniasis, sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre estaciones. Además, se encontró que los machos (9%) tuvieron mayor probabilidad que las hembras (2.06%) a ser positivos a la patología y que la probabilidad de ser positivos a Leishmaniasis incrementó con la edad, siendo los gerontes los más susceptibles (42,86%).

Palabras claves: Albergue, Canino, Croacia, Frecuencia, Leishmania

ABSTRACT

A study was carried out with the purpose of determining the frequency of canine Leishmaniasis in domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) in a shelter in the region of Dalmatia, Croatia, period 2019-2021. Data from 197 medical records registered in the database of the Beštie animal shelter located in the populated center of Kaštel Sućurac were collected. Applying a descriptive, retrospective, and cross-sectional methodology of the analyzed records. Digital instruments were used to process the data through frequency charts. The results revealed a total frequency of 5.58%, in the entire period, with the year with the highest frequency being 2020 (10.84%), with no statistically significant differences between the years studied. Likewise, spring was the most predominant season, with 11.27% of dogs positive for Leishmaniasis, however, there were no statistically significant differences between seasons. In addition, it was found that males (9%) were more likely than females (2.06%) to be positive for the pathology and that the probability of being positive for Leishmaniasis increased with age, with the elderly being the most susceptible (42, 86%).

Keywords: Canine, Croatia, Frequency, Leishmania, Shelter

I. INTRODUCCIÓN

El perro es la mascota más popular a nivel mundial. Existen alrededor de 470 millones de ejemplares, 65 millones de estos pertenecen a la Unión Europea (Bedford, 2020). A pesar de haber aumentado la población canina con los años, ahora hay menos animales por hogar (Larkin, 2021).

Los refugios de animales son una de las principales fuentes de adquisición de mascotas, responsables del 38% de perros en el 2020 (Larkin, 2021). En algunos países europeos, principalmente Eslovenia, los perros de raza mestiza representan gran parte de la población de mascotas caninas; esto es debido a que la compra de razas puras se considera un comportamiento antiético y además, es más atractivo adoptar animales de albergues ya que estos ya han sido esterilizados, implantados con un microchip, vacunados y desparasitados (Tasker, 2011). Cuando un perro de albergue es adoptado, es importante que los propietarios sean informados de todos los deberes y posibles riesgos para la salud humana que significa el animal.

Existen más de 100 zoonosis transmisibles del canino al humano, dependiendo de la ubicación geográfica (Tasker, 2011). El término zoonosis se refiere a cualquier enfermedad transmisible del animal al ser humano; es el trabajo del médico veterinario combatir estas patologías y ayudar en la prevención de las mismas, además de informar a los propietarios sobre su importancia y las medidas de control (Guerrero, 2014). Las enfermedades caninas transmitidas por vectores se están convirtiendo cada vez más en un motivo de preocupación mundial debido a sus altas tasas de morbilidad y mortalidad en perros, además su potencial zoonótico representa una amenaza a la salud humana, particularmente en zonas tropicales y subtropicales ya que las condiciones climáticas son favorecedoras para el crecimiento y proliferación de vectores (Vinnie-Siow et al., 2021).

La Leishmaniasis es la tercera enfermedad humana transmitida por vectores más importante, luego de la malaria y la filariasis linfática (Pennisi, 2015). Es una enfermedad antropozoonótica, endémica de las áreas tropicales y subtropicales del mundo, causada por un parásito protozoario del género *Leishmania*. La Leishmaniasis visceral humana es causada por la especie *Leishmania infantum*, o también llamada *Leishmania chagasi* (Silva et al., 2017).

La Leishmaniasis visceral tiene una incidencia estimada de 0,2 a 0,4 millones de casos a nivel mundial, con un total de 12 millones de personas afectadas. Los perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) son huéspedes de este protozoario (Maia & Cardoso, 2015). La Leishmaniasis animal puede ser encontrada en 17 países y la humana, en 20 (Berriatua et al., 2021).

El país europeo de Croacia está compuesto por cinco regiones geográficas; Croacia Central, región montañosa donde se encuentra la capital, Zagreb; Croacia Oriental, conformada por Eslavonia y Baranja que son las tierras bajas del país; Costa Norte, conformada por Istria y las islas Kvarner; Croacia montañosa, conformada por Gorski Kotar y Lika; y Costa Sur, conformada por Dalmacia Central, Norte y Sur (Luciano, 2018).

La región de Dalmacia es el principal atractivo turístico, posee numerosas playas e islas que atraen gran cantidad de turistas durante el verano. El clima es característico del Mediterráneo, cálido y seco durante el verano, con una temperatura promedio de 28°C y templado con lluvia en el invierno, con un promedio de 7°C (Howse, 2019). El 91,6% del territorio de Croacia es rural, el 44,4% de la población se considera rural y el 55,6% se considera población urbana. Las zonas rurales dependen directa e indirectamente de la Agricultura y del turismo rural (Demonja, 2014). Al igual que en muchos países del mediterráneo, la Leishmaniasis se considera endémica en Croacia (Alvar et al., 2012), se han reportado casos de Leishmaniasis animal, y también de Leishmaniasis visceral y cutánea en humanos. A pesar de esto, no se han implementado medidas de monitoreo y control en

animales; en el caso de humanos, existen medidas de monitoreo pero la existencia de medidas de control es desconocida (Berriatua et al., 2021).

Para el presente estudio científico se eligió a una población de caninos del albergue Beštie, ubicado en la ciudad de Kaštel Sućurac en la región de Dalmacia de Croacia, en donde los perros son sometidos a una prueba serológica de la marca IDEXX para descarte de Leishmaniasis antes de viajar a Alemania para ser adoptados. Se llevó a cabo una revisión del registro de descartes en el periodo mencionado para así poder estimar la frecuencia de Leishmaniasis en esa población durante todo el periodo, además de la anual y estacional. Además, se buscó determinar en qué época del año es más predominante esta patología y también correlacionar la frecuencia con el sexo y grupo etario del paciente.

Planteamiento del problema

La Leishmaniasis es una de las enfermedades zoonóticas de mayor importancia en todo el mundo, pudiendo causar la muerte de personas y animales, siendo estos últimos el principal foco infeccioso para los humanos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha asignado a la categoría I, como una patología emergente y sin control (Acero et al., 2015).

En Europa, se ha reportado alrededor de 700 casos autóctonos de Leishmaniasis visceral humana al año y la seroprevalencia aproximada en perros domésticos es del 25% (Maia & Cardoso, 2015; Silva et al., 2017). *L. infantum* es generalmente transmitida entre huéspedes a través de flebótomos, o también llamadas moscas de la arena, específicamente del subgénero *Larroussi*. La transmisión es principalmente rural o semi-urbana, sobre todo en casas con patio o jardín donde hayan perros y condiciones que favorezcan el crecimiento de estos vectores, como acúmulos de basura o material orgánico en descomposición (Maia & Cardoso, 2015).

Los perros de albergue tienen mayor probabilidad de contraer esta enfermedad ya que es menos probable que reciban tratamiento médico (Vinnie-Siow et al., 2021). Es por esto por lo que es de suma importancia realizar descartes de Leishmaniasis anuales a todos los animales, sobre todo a aquellos que van a viajar a otro país, para así tener un control adecuado de la patología y evitar su diseminación. El número de perros que viajan o son importados ha ido aumentando con los años, así que ahora más que nunca se necesitan medidas de control rigurosas y efectivas (Farkas et al., 2011; Guerrero, 2014; Maia & Cardoso, 2015).

Lamentablemente, en los albergues no se cuenta con el presupuesto necesario para analizar a todos los animales que se encuentran ahí, en muchos lugares solo se hacen pruebas a los animales sospechosos que presenten sintomatología clínica compatible con Leishmaniasis, o incluso hay lugares, sobre todo en países pobres, donde no se realiza ninguna prueba; en estos últimos, frecuentemente se tiene gran número de animales juntos y en algunas ocasiones se mezclan perros con gatos, favoreciendo a la transmisión de la enfermedad (Baneth et al., 2020).

Otro aspecto importante de la diseminación de esta patología es la movilización de animales de zonas endémicas a zonas no endémicas, por ejemplo, por adopción de perros callejeros. La introducción de perros infectados con *L. infantum* a países no endémicos que cuentan con presencia del insecto vector puede resultar en la persistencia de esta enfermedad (Le Rutte et al., 2021; Maia & Cardoso, 2015).

En Alemania, considerada como zona no endémica, se sabe que en la mayoría de los casos reportados en caninos de *L. infantum*, la enfermedad fue contraída durante viajes, principalmente a la región mediterránea (Mencke, 2011). Es por esto por lo que los propietarios deben ser informados de las medidas preventivas, como el uso de collares repelentes de insectos, durante toda su estadía en el país a donde viajen. Además, disminuir la carga

parasitaria de *L. infantum* en los países endémicos reduce la probabilidad de que perros infectados puedan ser importados o perros que estén de visita en ese país puedan adquirir la enfermedad (Maia & Cardoso, 2015). Realizar pruebas de descarte a perros de zonas endémicas antes que viajen a zonas no endémicas es de suma importancia para disminuir la diseminación de la enfermedad y para mantener un control sanitario adecuado dentro de los albergues y del país.

En el albergue Beštie se utiliza la prueba SNAP® de Idexx, la cual detecta anticuerpos caninos contra *L. infantum* a través del método de ELISA. La muestra a utilizar es sangre entera y los resultados se obtienen en 6 minutos. La sensibilidad es del 96,3% y la especificidad del 99,2%, se recomienda hacer la prueba 2-3 meses luego de la exposición (IDEXX Laboratories Inc., 2011). En este albergue, se realizan los descartes principalmente a los perros que hayan encontrado adoptantes en Alemania, si el resultado es positivo, el animal debe recibir tratamiento médico durante mínimo 4 semanas antes de viajar. Dentro del albergue también se hacen descartes, pero solo en perros que muestren algún signo clínico sospechoso durante el periodo de cuarentena, la cual normalmente es de 2 semanas. A pesar de ser lo más recomendado, no se realiza descartes a todos los animales del albergue, o incluso a los que hayan sido adoptados dentro de Croacia, debido a la falta de presupuesto y compromiso por parte de los propietarios.

¿Con qué frecuencia durante el periodo 2019-2021 se presentan casos de Leishmaniasis en pacientes caninos de raza mestiza, en un albergue animal de la región de Dalmacia en Croacia?

Justificación de la investigación

Al ser la Leishmaniasis una patología de importancia en salud pública, ya que se considera zoonótica, es fundamental poder identificarla exitosamente para así tomar las

medidas necesarias en cada caso (Acero et al., 2015). Este estudio busca aportar información sobre la frecuencia de presentación de la Leishmaniasis canina, en la región de Dalmacia en Croacia, con el fin de ampliar la bibliografía sobre el tema y así poder entender mejor la patología.

Se estima que ha habido algunos cambios en las características epidemiológicas de los focos naturales de Leishmaniasis en Croacia. Una revisión histórica de la Leishmaniasis humana y canina en este país muestra la presencia de focos de infección en la región de Dalmacia desde inicios del siglo 20 y desde el año 2000 hay un incremento aparente de la incidencia de Leishmaniasis visceral (Mulić et al., 2009). Desde 1997 la Leishmaniasis en Croacia ha sido demostrada parasitológicamente a través de detección de amastigotes en frotis de aspirados de nódulos linfáticos, así como serológicamente a través de pruebas de ELISA o IFI. La gran mayoría de perros infectados vivían en la región de Dalmacia y los que vivían en otras regiones de Croacia, habían viajado a Dalmacia por varias semanas (Živičnjak et al., 2005).

A pesar de haberse confirmado en múltiples ocasiones la presencia de *L. infantum* en Croacia, aún existen pocas investigaciones actuales sobre la frecuencia de esta enfermedad en esta región, es por esto por lo que es necesario expandir el estudio de casos para poder orientar mejor al médico veterinario sobre la probabilidad de presentación de esta enfermedad (Jurković et al., 2019; Mrljak et al., 2017).

Conocer la frecuencia de la Leishmaniasis canina es necesario para implementar y luego evaluar la efectividad de las medidas de control y prevención. El porcentaje de frecuencia en caninos domésticos nos otorga herramientas que permiten mejorar la vigilancia epidemiológica de esta patología (García & Parada, 2019). Los posibles adoptantes de caninos provenientes de albergues deben ser informados de los posibles riesgos de transmisión, sobre todo si tienen

niños, personas inmunocomprometidas u otras mascotas en el hogar. Al ser una enfermedad potencialmente letal si no es tratada, es importante utilizar todas las herramientas disponibles para darle al animal una buena calidad de vida y también proteger a las personas de un posible contagio (Maia & Cardoso, 2015; Paltrinieri et al., 2010).

Actualmente, sigue habiendo casos de Leishmaniasis tanto en zonas endémicas como no endémicas, es por esto por lo que es importante continuar con los estudios respectivos del tema, con el fin de poder entender mejor el curso de esta patología y diseñar herramientas de control y prevención que en un futuro ayuden a erradicarla (Alvar et al., 2012; Pennisi, 2015).

Objetivo General

Estimar la frecuencia de Leishmaniasis en una población de caninos (*C. lupus familiaris*) de raza mestiza, pertenecientes al albergue Beštie ubicado en Kaštel Sućurac, en la región de Dalmacia, en Croacia periodo 2019-2021.

Objetivos Específicos

- Determinar la frecuencia anual de Leishmaniasis canina en el albergue Beštie en el periodo 2019-2021.
- Determinar la relación de animales positivos con la estación en el albergue Beštie en el periodo 2019-2021.
- Determinar la frecuencia de Leishmaniasis canina según el sexo de los caninos del albergue Beštie en el periodo 2019-2021.
- Determinar la frecuencia de Leishmaniasis canina según el grupo etario de los caninos del albergue Beštie en el periodo 2019-2021.

II. MARCO TEÓRICO

1. El perro como mascota

Los perros representan un papel importante en la sociedad, ya que estos proveen compañía y cariño a muchas personas, con un énfasis en las comunidades más débiles, como niños y ancianos. La presencia de un perro en la familia permite una mejor educación para los niños, los cuales pueden aprender como participar en la vida social, así contribuyendo a la formación de ciudadanos más responsables. Es por esto por lo que los perros son considerados una fuente de bienestar para toda la comunidad (Gonella et al., 2019).

A pesar de que, en la Unión Europea, tener a un gato de mascota es más común, en el año 2018, el perro se llevó el primer puesto por ser la mascota más popular a nivel mundial, con un número mayor a 470 millones de ejemplares. 65 millones pertenecieron a la Unión Europea, siendo Alemania el país con mayor número de perros con aproximadamente 9,5 millones de mascotas caninas. Otros países con gran población canina fueron Reino Unido, Polonia y Francia (Bedford, 2020).

Comparado con el 2016, la población de perros domésticos aumentó de 76,8 millones a 83,7 millones en 4 años, con un promedio de 1,46 perros por hogar, según una encuesta virtual realizada por AVMA (American Veterinary Medical Association). El 45% de los hogares tenían perros y el 65% de estos solo tenían uno. Los efectos de la pandemia COVID-19 también pudieron ser observados, demostrando que las personas con trabajo remoto eran 8 veces más probables de obtener una nueva mascota (Larkin, 2021).

En el 2006, en Estados Unidos se determinó que un 42% de perros eran llevados a consulta menos de una vez al año, comparado con un 72% de gatos. En hogares con distintas mascotas solo el 13% de perros no visitaban al veterinario de manera anual, mientras que el 33% gatos no recibían ese cuidado (Lue et al., 2008). Esto podría ser atribuido a que el 85%

de los dueños consideran a los perros como parte de la familia, según una encuesta telefónica realizada en ese país por Pew Research Center. Se determinó, además, que los americanos invertían aproximadamente \$35,9 billones en sus mascotas en el 2005, comparado con \$17 billones en 1994; el dinero estuvo repartido en cirugía cosmética, seguro médico, cochecitos para mascotas, camas de agua, spas y hoteles. Los grupos más predispuestos a describir a sus mascotas como miembros de la familia son las mujeres, personas sin hijos y personas que viven en áreas urbanas. Del 57% de adultos dueños de mascotas, el 39% eran dueños de perros; la mayor parte fue de raza blanca (64%) y, en segundo lugar, hispanos (39%). El 94% de dueños de perros dijeron que su vínculo era cercano, comparado con el 85% de dueños de gatos (Taylor et al., 2006). Esto se puede ver en la cantidad de tiempo que los dueños pasaban con sus mascotas; el 55% de animales estaban en la mayor parte del día dentro del hogar, el 70% de ellos estaban permitidos dentro de todas las habitaciones y el 52% podían dormir dentro del cuarto de sus dueños. Estas estadísticas eran más fuertes en perros con un 56%, comparado con un 46% de gatos. Los dueños de perros pasaban 45,3 horas a la semana con sus mascotas, comparado con solo 32 horas a la semana en el caso de los dueños de gatos (Lue et al., 2008).

1.1. Tenencia responsable

Se caracteriza como tenencia responsable a la situación en la que el propietario acepta y cumple con las obligaciones de acuerdo con las regulaciones y asegura que las necesidades de su mascota, tanto físicas como de su ambiente, estén satisfechas; además de prevenir los riesgos de agresión, transmisión de enfermedades o injurias que podría significar esa mascota para la comunidad, otros animales o para el medio ambiente (Uprava za Veterinarstvo, 2010).

En una encuesta telefónica realizada en el 2016 por AVMA, sobre dueños latinos residentes en Estados Unidos, se determinó que un 78,5% tenían al menos un perro y reportaron haber llevado a su mascota al veterinario en el último año, las razones más comunes fueron por

vacunas o por enfermedad. Los propietarios estaban más satisfechos con la atención veterinaria y menos satisfechos con el precio (Landau et al., 2016). El principal proveedor de medicación, en el 59% de los casos, es el médico veterinario debido a su experiencia. Mientras tanto, las tiendas online o de mascotas, son superiores para los propietarios debido al precio, en un 54% (Larkin, 2021).

Está demostrado que aquellos dueños que tienen un vínculo mayor con sus animales buscan mejor cuidado veterinario, a comparación de aquellos con vínculos menores, y son más propensos a seguir con las recomendaciones sin importar el costo, además de cumplir con su rol de vacunaciones, exámenes clínicos de rutina y cuidado preventivo dental (Lue et al., 2008).

1.2. Perros callejeros

En Croacia, el término perro callejero se refiere a tres tipos de caninos: aquellos que tienen dueño pero deambulan libremente y no se encuentran bajo control directo de este; aquellos que deambulan libremente y no tienen dueño; y a los perros salvajes, que en realidad son perros domésticos que han regresado a la naturaleza y ya no poseen un contacto directamente dependiente con los humanos (Uprava za Veterinarstvo, 2010).

Los animales callejeros, suelen vivir en condiciones pobres, con bajos recursos y sin cuidados médicos que les otorguen una buena calidad de vida. Además, pueden significar un riesgo inminente a la salud humana debido a su rol en la transmisión de enfermedades. (Tasker, 2011) Es por esto, que los albergues tienen un papel importante en el control de las poblaciones callejeras, ayudando a que los animales puedan tener acceso a alimento y bebida, medicina y compañía, por ende, una mayor tasa de supervivencia.

Existen más de 200 millones de perros callejeros en el mundo, según la Organización Mundial de la Salud, y muchos de ellos viven en Europa Oriental (Fenn, 2021; Raphelson,

2017); cada día más animales terminan siendo callejeros, la mayoría de ellos son abandonados por sus dueños, lo cual no permite que los albergues puedan otorgarle un cuidado apropiado a cada uno de ellos. Es por esto por lo que es importante promover la adopción responsable. Adoptar un perro de un albergue, no solo es beneficioso para este, sino también para permitir que otro perro callejero pueda ser rescatado (Fenn, 2021; Juričev-Sudac, 2016; Šimić, 2021).

1.3. Albergues de animales

La misión de los albergues, no es solo cuidar a los animales, sino también ayudar en su reintegración en la sociedad, administrando una adopción responsable para cada uno de ellos (Gonella et al., 2019). Además, los programas de esterilización, la educación de propietarios y los voluntariados permiten generar interés público sobre los animales abandonados, lo cual puede traducirse en un número menor de animales sacrificados (Protopopova, 2016).

Los albergues representan una parte importante en las comunidades, al ser los perros una parte clave de toda sociedad ya que mejoran el bienestar de las personas. Aproximadamente 4 a 5,5 millones de perros viven en albergues cada año (Gunter et al., 2019; Protopopova, 2016). En un albergue en Italia, en el 2016, hubo alrededor de 100 perros viviendo dentro y un flujo de 200 perros que entraban y salían (Gonella et al., 2019). Muchos encuentran hogar o son reclamados por sus propietarios, pero alrededor del 14% son eutanasiados (Gunter et al., 2019). A pesar de que el número de perros que ingresan a los albergues y el número de eutanasias está en declive, la American Society for the Prevention of Cruelty (ASPCA) reportó un porcentaje de eutanasia del 96% en 1895, comparado con solo un 31% en el 2016; la longitud de los periodos de estadía está en aumento, en 1999 el periodo promedio de estadía era de 9,5 días, mientras que en el 2013 fue de 34,6 días, datos más recientes no están disponibles. Durante su estadía en los albergues, los perros experimentan diversas fuentes de estrés, como ruidos, olores, focos infecciosos, espacio limitado, horarios

que no se ajustan a cada individuo y pérdida de vínculos sociales (Gunter et al., 2019; Hoffman et al., 2019; Protopopova, 2016).

Una de las causas de estrés más comunes para los perros en los albergues es el aislamiento social, esto eleva sus niveles de cortisol. A pesar de que, los perros en albergues comúnmente tienen mayor actividad física que los perros en hogares, y estos niveles altos de actividad se han vinculado también con niveles altos de cortisol, algunos perros pueden reaccionar de manera contraria y aislarse de los demás, lo cual los afecta no solo aumentando su estrés, sino también haciendo que pierdan posibles adoptantes al esconderse fuera de la vista de estos (Gunter et al., 2019; Hoffman et al., 2019).

Los perros en albergues forman vínculos rápidamente con humanos que recién conocen. Aquellos que viven en albergues por un periodo de tiempo prolongado, son más probables de desarrollar problemas conductuales, o de experimentar niveles mayores de estrés y declives sociocognitivos, es por esto por lo que la interacción humana regular ha sido asociada con mejores resultados comportamentales y menores niveles de cortisol, con la posibilidad de que periodos más largos de interacción puedan otorgar mejores efectos. Recientemente, los albergues están utilizando programas de hogares temporales a corto plazo para otorgarles a los perros un alivio de la vida en jaulas y programas de voluntarios envían gente dispuesta a socializar con los animales durante el día (Gunter et al., 2019; Thielke & Udell, 2020). Según un estudio realizado por Gunter et al, publicado en 2019, donde se realizó un monitoreo de los niveles de cortisol en perros de albergue se encontró que estos disminuyeron significativamente durante la estadía en el hogar temporal, pero regresaron a sus niveles basales al volver al albergue. También encontraron que los perros con mayor peso, edad y frecuencia cardíaca en reposo tuvieron mayores niveles de cortisol; asimismo, los perros que lograban tener periodos ininterrumpidos de reposo tenían niveles menores. Es por esto, por lo que las condiciones

dentro de los albergues deben ser mejoradas para darles una buena calidad de vida a los perros que se encuentren viviendo dentro de estos (Gunter et al., 2019).

1.4. Situación en Croacia

Es el trabajo del veterinario en la República de Croacia prevenir la transmisión de las enfermedades de animales hacia humanos, es por esto que se instaló un programa de control de la población canina callejera, donde además de la prevención de enfermedades, se busca manejar de manera correcta a los perros abandonados y promover una tenencia responsable (Uprava za Veterinarstvo, 2010).

A partir del 2016, la República de Croacia busca establecer un vínculo de trabajo entre los gobiernos regionales y locales donde colaboren representantes de condados, albergues, organizaciones no gubernamentales, asociación de médicos y técnicos veterinarios y de la oficina regional de veterinaria. El objetivo de este grupo es encargarse de prevenir y solucionar problemas, en cada territorio, respecto a los perros callejeros (Mihaljević, 2016). Los organismos estatales locales de cada región son los responsables de financiar los albergues de animales y asegurarse de que sean operativos, además de organizar la colecta y transporte de los animales callejeros al albergue, si es que estos no pueden realizarlo por sí mismos (Uprava za Veterinarstvo, 2010).

Según el programa de control de la población de perros callejeros establecido en Croacia, es responsabilidad de los albergues cumplir con la higiene necesaria para darles a los animales el mejor bienestar posible y prevenir la transmisión de enfermedades. Además, la estadía del perro en el albergue debe ser sin dolor, miedo y sufrimiento, es por esto por lo que a, partir del 2010, se implementó un programa certificado de entrenamiento obligatorio para el personal de los albergues de animales (Uprava za Veterinarstvo, 2010).

En Croacia existen varios albergues que cuidan a los animales y educan a los propietarios sobre la tenencia responsable de estos. El objetivo principal de un albergue debería ser dar refugio a los animales callejeros hasta que estos puedan encontrar un hogar permanente (Fenn, 2021; Juričev-Sudac, 2016; Šimić, 2021).

2. Enfermedades transmisibles por vectores

Las enfermedades transmisibles por vectores están distribuidas de manera amplia en todo el mundo, entre ellas se encuentran la erliquiosis, anaplasmosis y la enfermedad de Lyme, las cuales tienen a la garrapata como vector, y la leishmaniasis y dirofilariasis, las cuales tienen a los dípteros. Los perros domésticos suelen ser el reservorio principal de estas patologías, dificultando la ruptura del ciclo de transmisión al ser su relación con el humano, en muchos casos, muy estrecha (García & Parada, 2019)

2.1. Leishmaniasis

La Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria antropozoonótica, endémica de las áreas tropicales y subtropicales del mundo, que afecta tanto a humanos como a animales. Es una enfermedad que presenta un serio obstáculo al desarrollo socio económico (Ferreira, 2015; Silva et al., 2017). La leishmaniasis visceral es la forma de presentación más grave, culpable de alrededor de 50,000 muertes en humanos al año, a nivel mundial (Guerrero, 2014).

2.1.1. Agente causal

La Leishmaniasis es causada por un parásito protozoario del género *Leishmania*. Los caninos pueden padecer Leishmaniasis cutánea, causada por *L. braziliensis* y *L. panamensis*, o visceral causada por la especie *L. infantum*, o también llamada *Leishmania chagasi*, la cual es causante también de la Leishmaniasis visceral en humanos (Acero et al., 2015; Ferreira, 2015; Guerrero, 2014; Silva et al., 2017).

2.1.2. Distribución

La Leishmaniasis es endémica en América Latina, el Mediterráneo y África (Acero et al., 2015). *L. infantum* está ampliamente distribuida en el continente americano, principalmente en Brasil, se estima que la incidencia anual de Leishmaniasis visceral en toda la región durante el periodo 2004-2008, fue de 4500 a 6800 casos. Brasil fue el principal país que contribuyó a este número, con una incidencia estimada de 4200 a 6300 casos (Alvar et al., 2012; Silva et al., 2017). En Colombia, se puede encontrar en zonas rurales con bosque seco tropical (García & Parada, 2019). En Argentina, los reportes anuales de Leishmaniasis son alrededor de 40 y 90 dentro de todo el país (Salomón et al., 2012).

Esta patología también se considera endémica y ampliamente distribuida en países mediterráneos como Chipre, Grecia, Albania, Croacia, Italia, Malta, Francia, España y Portugal (Berriatua et al., 2021); dentro de esta región, la seroprevalencia fluctúa entre 10% a 37% (Živičnjak et al., 2005). La incidencia anual estimada de Leishmaniasis visceral en la región del mediterráneo en el periodo 2003-2008 fue de 1200 a 2000 casos, siendo el país más prevalente Moroco, con un número de casos entre 300 y 610 al año, seguido por Italia (160 a 240 casos), España y Albania (ambos con 140 a 210 casos), Algeria (130 a 200 casos) y Tunisia (110 a 160 casos) (Alvar et al., 2012). La seroprevalencia en algunos focos infecciosos en Italia fluctúa entre el 10% hasta el 53,1% (Mrljak et al., 2017).

La parte central y sur de la región de Dalmacia es la única área en Croacia donde la patología se considera endémica. La Leishmaniasis canina ha sido reconocida en el país como una enfermedad reemergente desde 1997. La seroprevalencia en la ciudad de Dubrovnik fue del 1,38%; mientras que en la ciudad de Split se encontró que fluctúa entre 0% hasta 42,85% dependiendo de la ubicación exacta; en Kaštela y Šibenik-Knin, se obtuvo una seroprevalencia de 13,5%. Posiblemente debido al calentamiento global, los casos de Leishmaniasis han sido reportados también en focos fuera de los países mediterráneos, como por ejemplo en Hungría

y Alemania (Mrljak et al., 2017; Živičnjak et al., 2005, 2011). En toda Europa, aproximadamente 1200 a 2000 casos humanos de Leishmaniasis son diagnosticados al año y se estima que el 16,7% de toda la población canina presenta la infección con *L. infantum* (Le Rutte et al., 2021).

En el periodo 2003-2008, más del 90% de los casos globales de Leishmaniasis visceral ocurrió en 6 países: India, Bangladesh, Sudán, Sudán del Sur, Etiopía y Brasil. La Leishmaniasis cutánea se encontró más distribuida, con un tercio de los casos en cada una de las 3 regiones epidemiológicas: las Américas, la cuenca del Mediterráneo y Asia occidental, desde el Medio Oriente hasta Asia Central. Los 10 países con mayor tasa de casos fueron Afghanistan, Algeria, Colombia, Brasil, Irán, Siria, Etiopía, Sudán del Norte, Costa Rica y Perú, juntos sumaron el 70-75% de la incidencia global de Leishmaniasis cutánea (Alvar et al., 2012).

2.1.3. Transmisión

El parásito es transmitido a huéspedes vertebrados a través de la hembra de dípteros flebótomos, comúnmente llamados moscas de la arena, del género *Lutzomyia* en el caso de América; la especie *Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*) es el vector de Leishmaniasis visceral más común en Brasil. En el caso de Europa, Asia y África, el género más común es *Phlebotomus*. En la región de Dalmacia, en Croacia, se han identificado las especies *Phlebotomus negelectus*, *Phlebotomus perfiliewi*, y *Phlebotomus tobbi*. El perro doméstico es el principal reservorio del parásito (Acero et al., 2015; Ferreira, 2015; García & Parada, 2019; Guerrero, 2014; Silva et al., 2017).

En zonas urbanas, el perro es considerado el principal reservorio y en zonas rurales, los carnívoros salvajes. Los perros infectados de zonas endémicas, pueden significar un riesgo para la salud humana si es que viajan a zonas no endémicas en compañía de su dueño ya que

de esta manera están provocando la diseminación de la enfermedad (Silva et al., 2017). Otros reservorios pueden ser roedores silvestres, osos perezosos, armadillos, zarigüeyas, entre otros. Los felinos, equinos, bovinos y aves domésticas pueden ser fuentes de alimentación para el vector, pero su papel en la transmisión de la enfermedad aún es desconocido (Acero et al., 2015).

La transmisión por parte de los reservorios puede ser sanguínea, vertical y venérea. Es por esto por lo que los animales seropositivos no deben ser usados para reproducción o como donadores de sangre. Las mordeduras de animales infectados o la picadura de pulgas o garrapatas no se consideran formas de transmisión de esta enfermedad (Acero et al., 2015).

Los humanos pueden ser infectados directamente al ingresar a zonas de selva donde son picados por el insecto vector o este puede ingresar a las casas de las personas que viven en las cercanías a la naturaleza, pudiendo afectar a varios miembros de la familia (Acero et al., 2015). En zonas rurales de Croacia, donde hay coexistencia de perros con humanos, se reportó que la prevalencia de la hembra de *Phlebotomus neglectus* alimentándose de sangre humana era de un 30% (Mrljak et al., 2017; Živičnjak et al., 2011).

2.1.4. Ciclo biológico

El flebótomo se alimenta de la sangre de un perro con presencia de la enfermedad, ingiriendo macrófagos infectados. Durante las primeras 24 horas, dentro del intestino del mosquito, se desarrollan los amastigotes, estos son intracelulares y se multiplican dentro de los macrófagos para luego diferenciarse en promastigotes. Los promastigotes poseen un flagelo, lo cual les otorga movilidad y les permite recorrer el intestino del vector. Una vez que el tracto digestivo del insecto es completamente colonizado, se diferencian en promastigotes metacíclicos, los cuales representan la forma infecciosa que es transmitida a los animales para ser fagocitados por los macrófagos del huésped y convertirse en amastigotes nuevamente,

multiplicarse de manera intracelular y migrar a diferentes órganos (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019).

2.1.5. Fisiopatología

Cuando el flebótomo pica a un perro sano, inocula gran cantidad de promastigotes de *Leishmania* sp. El organismo intenta reparar el tejido lesionado, provocando la migración de neutrófilos, macrófagos y células NK, cuyo objetivo es fagocitar a la mayoría de los promastigotes. Dentro de los macrófagos, se genera una cascada enzimática con el objetivo de erradicar al parásito, lo cual, en muchos casos, no se logra; entonces los amastigotes empiezan a reproducirse hasta romper la membrana del macrófago, escapando a la circulación sanguínea y linfática para ser diseminados a otros órganos y tejidos. Este proceso desencadena una respuesta inflamatoria fuerte por parte del huésped. Dentro del linfonódulo regional de mayor cercanía, las células dendríticas presentan los antígenos parasitarios a los linfocitos T helper (Th) y T citotóxicos (LTc), estos se diferencian en Lth1 y para producir Interferón gamma (IFN-g), o en LTh2 para producir interleuquinas (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019).

En lo que respecta al sistema inmune, en aquellos pacientes donde abunda la respuesta inicial celular y la producción de anticuerpos es baja, ya que predominan los linfocitos Th1, los animales serán asintomáticos a pesar de ser positivos a la enfermedad. Por otro lado, aquellos pacientes que producen gran cantidad de anticuerpos (IgG e IgE), van a desarrollar un cuadro crónico, en muchos casos, severo con presencia de signos clínicos y alta carga parasitaria, debido a que predominan los linfocitos Th2, los cuales son los culpables de bloquear los mecanismos de activación de los macrófagos, provocando que el parásito se multiplique dentro de estos y logre infectar a otros; esta respuesta inmune también puede ocasionar el depósito de complejos inmunes en diversos órganos por activación inespecífica del sistema humoral, principalmente de la inmunoglobulina G (IgG), lo cual a largo plazo lleva

a complicaciones como neumonía intersticial, uveítis, glomerulonefritis o nefritis intersticial (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019).

La hepatomegalia, esplenomegalia y nefropatías han sido reportadas en caninos con Leishmaniasis visceral. Los protozoarios de *Leishmania* pueden infectar diferentes tipos de células, incluyendo macrófagos, células endoteliales, hepatocitos, células dendríticas, entre otras. La hepatomegalia es el resultado de una infiltración de células inflamatorias, hipertrofia/hiperplasia celular permanente y posible congestión pasiva. La inflamación granulomatosa crónica puede estar inicialmente restringida dentro de los sinusoides y luego expandirse al área portal, a la cápsula o convertirse en difusa, resultando en una deficiencia de los factores de coagulación. La esplenomegalia es causada por la proliferación y/o infiltración de células inmunes y está asociada a la hiperplasia de la pulpa blanca y roja debido a cambios de la estructura microvascular. Las nefropatías han sido asociadas con mecanismos inmuno-mediados y están caracterizadas por la presencia de glomerulonefritis proliferativa y nefritis intersticial (Honse et al., 2013).

Las manifestaciones hemorrágicas, como la epistaxis, son comúnmente vistas. Esta parece ser un resultado de la inflamación y de las lesiones ulcerativas de la mucosa nasal, más que por afecciones plaquetarias. No obstante, no se puede atribuir un solo mecanismo para la presencia de epistaxis ya que se cree que es el resultado de la interacción de varios factores internos. En las fases iniciales de la infección, el parásito interactúa de manera directa con las plaquetas causando conglomeraciones de estas. Las concentraciones altas de gammaglobulinas están asociadas a complejos inmunes circulantes, los cuales pueden depositarse en las paredes vasculares causando defectos endoteliales, alteraciones en la interacción interplaquetaria y/o inhibición de la degranulación y/o adhesión plaquetaria. Además, el sangrado es más prolongado en perros con un nivel plaquetario normal pero con niveles elevados de creatinina, lo cual se puede ver en pacientes con fallo renal. La trombocitopenia está asociada a un

mecanismo inmuno-mediado debido a la formación de anticuerpos antiplaquetarios por la presencia de complejos inmunes (Honse et al., 2013).

2.1.6. Signos clínicos

La sintomatología puede ser inespecífica y con diversos grados de severidad. Existen tres formas de presentación de la enfermedad: la forma cutánea, la cual es la más común, la forma mucocutánea y la forma visceral, esta última es la más severa y es conocida también como kala-azar. Lo más común es el aumento de linfonódulos de manera local o generalizada, fiebre, lesiones cutáneas, como alopecia, dermatitis, úlceras (pueden observarse a nivel escrotal en machos) y onicogriposis y lesiones oculares, como conjuntivitis, queratoconjuntivitis, blefaritis y uveítis (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019; Guerrero, 2014; Paltrinieri et al., 2010).

El cuadro clínico puede ser asintomático o de presentación sistémica, puede afectar diversos órganos como el hígado, bazo, riñones y el sistema tegumentario. Algunos cambios patológicos requieren de imágenes para poder ser detectados, como por ejemplo la hepatoesplenomegalia. En casi todos los pacientes se observan afecciones renales, usualmente en consecuencia del depósito de complejos inmunes los cuales provocan la proliferación de células glomerulares y engrosamiento de capilares, conocido como hialinización y esclerosis glomerular, causando un daño irreversible de la nefrona y disminución de la filtración glomerular, lo cual se traduce clínicamente en azotemia. Estas afecciones pueden ser glomerulonefritis, nefritis intersticial, síndrome nefrótico y, eventualmente, insuficiencia renal crónica (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019; Guerrero, 2014; Paltrinieri et al., 2010).

Los signos clínicos más notorios para el propietario pueden ser pérdida progresiva de peso, con o sin pérdida del apetito, las diversas lesiones cutáneas, diarreas, hematuria, poliuria-polidipsia y epistaxis. Pueden presentarse también afecciones del sistema locomotor, como

atrofia muscular, poliartritis y cojeras. Es una enfermedad inmunosupresora, lo cual puede terminar causando la muerte (Acero et al., 2015; García & Parada, 2019; Guerrero, 2014; Paltrinieri et al., 2010).

A nivel sanguíneo, se puede observar trastornos plaquetarios, como trombocitopenia; anemia, normalmente normocítica normocrómica no regenerativa; y leucopenia en las formas graves. La muerte puede ser causada por pérdida de sangre y por la eritrolisis inmunomediada. De manera inusual, pueden desarrollarse otras complicaciones como la coagulación intravascular diseminada (CID), probablemente asociada al uso excesivo de plaquetas y factores de coagulación, se cree, además, que el protozoo afecta el mecanismo de fibrinólisis. En el perfil bioquímico se puede observar aumentos de las enzimas ALT y AST y, frecuentemente, aumento de urea y creatinina. En el urianálisis se puede observar proteinuria con presencia de sedimento en forma de cilindros (Acero et al., 2015; Honse et al., 2013).

2.1.7. Factores predisponentes

La leishmaniasis puede afectar a pacientes de diferente sexo, y raza; aunque hay algunas razas que parecen estar más predispuestas, como el pastor alemán o el bóxer, y se cree que los machos tienen un riesgo mayor de contraer la enfermedad. Los perros pueden ser infectados a cualquier edad, pero se ha reportado mayor prevalencia en edades mayores a 3 años y en el rango de 8 a 10 años. Algunos individuos no desarrollan la enfermedad y suelen presentar solamente una inflamación en forma de nódulo en el lugar de la picadura del insecto; en algunos países, solo el 10% de los animales desarrollan signos clínicos (Acero et al., 2015; Paltrinieri et al., 2010).

La Leishmaniasis es una enfermedad que tiene una asociación directa con el clima. Las estaciones con bajas temperaturas, principalmente el invierno, son periodos relacionados con actividad nula de los ejemplares adultos del vector. No obstante, vectores competentes han

sido capturados durante noches templadas de invierno en microhábitats que se encuentran protegidos de cambios súbitos de clima, como parches remanentes de bosque primario, o hábitats que moderan estos cambios, como parches de vegetación secundaria. Esto sugiere que incluso un aumento leve en la temperatura puede llevar a una generación continua de vectores y mayor riesgo de transmisión parasitaria dentro de estos focos. Sin embargo, este aumento de temperatura debe tener un rango mínimo, ya que noches calientes únicas no le dan tiempo suficiente a la hembra como para alimentarse por segunda vez, siendo la primera para conseguir la infección y la segunda para transmitirla. La estación de mayor actividad es el verano, con mejor temperatura y condiciones de humedad para mayor proliferación de hembras del vector. Las mejores condiciones son entre 26°C y 28°C y 63% y 68% de humedad relativa (Mrljak et al., 2017; Salomón et al., 2012; Santini et al., 2010).

En Europa se considera el mes de junio la mejor época para el desarrollo del vector y entre febrero y marzo es la época donde normalmente no hay transmisión. En la región del Mediterráneo, los caninos pueden estar expuestos a picaduras de moscas de la arena desde inicios de abril hasta noviembre, potencialmente causando una nueva infección de *L. infantum*. Durante la época de transmisión, los perros al estar expuestos a muchas picaduras, desarrollan rápidamente una fuerte respuesta contra la saliva del vector, la cual incrementa con el número de picaduras y disminuye cuando la exposición se reduce, esto podría explicar la variación en los títulos de anticuerpos anti-*Leishmania* según la época del año (Cavalera et al., 2021).

2.1.8. Diagnóstico

Al recibir un paciente sospechoso de Leishmaniasis, es importante realizar un hemograma, una bioquímica sanguínea y un urianálisis para poder evaluar el estado general del paciente y también la condición renal. Para obtener muestras para observar al parásito, se puede realizar una punción o impresión de médula ósea, de linfonódulo aumentado o de la porción subcutánea de las lesiones (Acero et al., 2015).

El diagnóstico definitivo puede ser directo o indirecto. Los métodos directos incluyen la evaluación citológica e histológica, el cultivo, PCR y el xenodiagnóstico. Los métodos indirectos incluyen las pruebas serológicas, como IFI, ELISA y la prueba rápida inmunocromatográfica (Berriatua et al., 2021; Paltrinieri et al., 2010).

En citología, se puede realizar tinción de Giemsa. Si se encuentra tan solo un amastigote dentro de un macrófago, se confirma el diagnóstico de Leishmaniasis en pacientes con signología evidente y compatible con la enfermedad; este método no es efectivo en perros que viven en zonas endémicas, ya que la signología clínica es inespecífica. El método diagnóstico a través de medios de cultivo, como NNN, Schneider's modificado, Senekjje's medio bifásico, medios enriquecidos con suero fetal o cultivos celulares de insectos, suelen ser específicos, pero tardan mucho tiempo. Tienen una sensibilidad del 68% y suelen ser utilizados solo en investigación (Acero et al., 2015).

Los métodos serológicos detectan anticuerpos anti-*Leishmania*, principalmente IgG (IgG1 e IgG2) (Acero et al., 2015). La prueba de IFI (Inmunofluorescencia indirecta) tiene una sensibilidad del 96% y especificidad del 98% para la Leishmaniasis canina, lo cual es similar a la prueba de ELISA. Los títulos elevados de anticuerpos anti-*Leishmania* en presencia de signos clínicos se considera como infección activa, mientras que títulos bajos de anticuerpos indican infección subclínica o que el paciente ha sido expuesto a la enfermedad sin haberla contraído. En la prueba de IFI, los títulos elevados normalmente están relacionados con diseminación parasitaria y signos clínicos más severos (Cavalera et al., 2021).

El diagnóstico preciso y rápido del parásito es extremadamente importante para el control de la Leishmaniasis visceral, pero esto va a depender de los métodos diagnósticos disponibles. Los métodos convencionales de diagnóstico suelen tener baja sensibilidad y/o especificidad lo cual representa un problema al tratar de diferenciar animales infectados de los

no-infectados. Las pruebas serológicas, que son las más usadas para el diagnóstico de Leishmaniasis, presentan ciertas limitaciones y pueden proveer resultados falsos-positivos o falsos-negativos, lo cual puede ocasionar la eutanasia de animales que realmente no tienen la enfermedad y que se mantengan vivos a los animales reservorios y que estos continúan diseminando la patología (Silva et al., 2017).

Este problema puede ser mejorado con técnicas moleculares, como el PCR. Esta herramienta es de especial utilidad al diagnosticar animales aparentemente sanos. La técnica de PCR a tiempo real (qPCR) permite cuantificar de manera precisa los niveles parasitarios, esto es beneficioso en los casos inconclusos o también para verificar si se ha logrado disminuir la carga parasitaria luego de un tratamiento. El PCR también permite identificar la cepa de *Leishmania*, lo cual es útil para conocer el pronóstico y los datos epidemiológicos de la zona de donde viene el animal (Acero et al., 2015; Silva et al., 2017).

En pacientes con presencia de daño tisular y cuya citología dio un resultado positivo, se considera que tienen Leishmaniasis activa. Aquellos cuya citología dio un resultado negativo, deben ser sometidos a una prueba serológica. Si hay presencia de lesiones cutáneas, se debe realizar una biopsia cutánea y mandarla a inmunohistoquímica o PCR. Si no hay lesiones cutáneas, pero si hay presencia de signos compatibles con Leishmaniasis, se debe realizar una prueba de PCR de muestra proveniente de médula ósea o de linfonódulos. Pacientes sospechosos, con un número bajo de anticuerpos anti-*Leishmania*, lo cual es indicativo de un contacto previo con el protozoario, deben ser monitoreados ya que la enfermedad puede volverse a activar (Acero et al., 2015).

2.1.9. Tratamiento

El tratamiento de la Leishmaniasis es un gran desafío para los médicos veterinarios. Todas las drogas que se usan para el tratamiento pueden llevar a una remisión temporal o

permanente de los signos clínicos, pero ninguna logra eliminar la infección por completo; en algunos casos, incluso puede ser ineficaz, lo cual termina en la eutanasia de los animales seropositivos, con especial énfasis en aquellos países donde se considera endémica, donde hay una alta casuística humana y escasas terapias alternativas. El objetivo del tratamiento es principalmente reducir la carga parasitaria, tratar el daño orgánico causado por el parásito, restaurar la respuesta inmune, aliviar los signos clínicos y evitar las recaídas; esto le otorga una mejor calidad de vida al paciente y al mismo tiempo disminuye la posibilidad de transmisión del parásito. Antes de iniciar, es importante tener el diagnóstico definitivo, ya que algunos de los fármacos a utilizar son nefrotóxicos (Acero et al., 2015; Oliva et al., 2010).

En países donde el tratamiento es permitido, los fármacos más utilizados son el Antimoniato de meglumina a dosis de 75-100 mg/kg/día vía SC por 4 semanas, la Miltefosina a dosis de 2 mg/kg/día durante mínimo 28 días y el Alopurinol a dosis de 10 mg/kg/ cada 12 horas vía oral durante 6 a 12 meses. Hoy en día también se usan fármacos como Enrofloxacin, Domperidona, Pentamidina, Anfotericina B o combinaciones, como Espiramicina con Metronidazol. Sin embargo, el tratamiento de elección que ha demostrado ser el más eficaz, es la combinación de Antimoniato de meglumina con Alopurinol. La Domperidona funciona como inmunomodulador y puede usarse también de forma preventiva, a dosis de 0.5 mg/kg/día vía oral por 30 días en la época de mayor actividad de los vectores, además puede utilizarse en pacientes con insuficiencia renal (Acero et al., 2015; Guerrero, 2014).

En América Latina, especialmente en Brasil y Argentina, solo los caninos con la forma cutánea de la enfermedad pueden ser tratados, mientras que para aquellos que tienen la forma visceral se debe sugerir la eutanasia ya que esta forma de la enfermedad causa recaídas más constantes, la cepa parasitaria puede desarrollar resistencia y el tratamiento no está disponible comercialmente; además, estos animales representan un riesgo para la salud pública, al actuar como reservorios con capacidad de infectar a los vectores. No obstante, existen tratamientos

como los antimoniales pentavalentes, los cuales destruyen los amastigotes en los fagolisosomas de los macrófagos; la inyección local de antimonio pentavalente puede ser utilizada para tratar las lesiones cutáneas ulceradas y así evitar sacrificar a perros domésticos infectados, estas lesiones se curan en aproximadamente 2 a 6 semanas. Sin embargo, aún no está comprobado que realmente se disminuya el riesgo de transmisión después de este tratamiento (Acero et al., 2015).

Aquellos pacientes expuestos o que sean subclínicos, no necesariamente deben ser tratados, solo necesitan monitoreo y evaluación serológica periódica. Los caninos con infección evidente deben ser sometidos a terapia solo en el caso de que haya aumento en el número de anticuerpos anti-*Leishmania*. Los caninos que presenten el cuadro clínico necesitan el tratamiento contra el parásito y terapia de soporte en caso sea necesario, aquellos que presenten signos clínicos graves, necesitan tratamiento contra el parásito y terapia de soporte si cursan con insuficiencia renal o hepática. Por último, en los caninos no responsivos al tratamiento o que tengan recaídas, se debe reevaluar el protocolo terapéutico y tratar de identificar patologías concomitantes (Acero et al., 2015).

2.1.10. Medidas de control y prevención

Las medidas de control en países de Latinoamérica incluyen descartes obligatorios y el sacrificio de animales seropositivos, lo cual muchas veces es rechazado por el propietario de la mascota, y la fumigación con insecticidas para eliminar al vector. A pesar de esto, es una patología que sigue distribuyéndose (Guerrero, 2014).

En países europeos se considera a la vacunación como una alternativa. Las vacunas disponibles son Leishmune®, la cual contiene una glicoproteína de *Leishmania donovani* y Tech® Leish, que contiene el antígeno A2 de diversas especies de *Leishmania*. No obstante, hay muy pocos estudios que prueben su eficacia y, aunque estas vacunas pudieran prevenir la

infección, no se ha demostrado que puedan prevenir la transmisión o que puedan curar la enfermedad (Acero et al., 2015).

El uso de Domperidona de forma preventiva ha demostrado hacer al paciente canino 7 veces menos susceptible de contraer la enfermedad, comparado con aquellos que no recibieron el fármaco. Por otro lado, la vacuna solo los hace cuatro veces menos susceptibles (Acero et al., 2015).

Otras estrategias preventivas incluyen el educar al propietario sobre la tenencia responsable de mascotas, ya que al no permitirles que estén fuera de su hogar todo el tiempo se disminuye el riesgo de contagio, además del uso de repelentes, como las pipetas repelentes de uso externo, otros repelentes químicos o naturales, formulaciones tópicas a base de piretroide y collares ectoparasiticidas a base de permetrina y deltrametrina. Es importante, también, otorgarle al paciente una adecuada nutrición y todas las medidas que refuercen su sistema inmune (Acero et al., 2015).

En las ciudades pertenecientes a Dalmacia, está decretado que, según The Act on Veterinary Care, es obligatorio someter a todos los animales que muestren signos clínicos evidentes de Leishmaniasis a una prueba de descarte. Además, durante el periodo 2002 a 2005, las pruebas eran gratis para los propietarios y aquellos animales que salieran positivos eran tratados con Alopurinol, según decreto del Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Gestión del Agua de Croacia. Lamentablemente, estas medidas se consideraron muy costosas y fueron suspendidas en 2006 (Živičnjak et al., 2005, 2011).

III. ANTECEDENTES

Alvar et al. (2012), estimaron la incidencia de Leishmaniasis cutánea y visceral por país y región epidemiológica basándose en reportes de incidencia, tasas de subregistro y el criterio de expertos nacionales e internacionales. Como resultado se obtuvo que aproximadamente ocurren 0,2 a 0,4 millones de casos de Leishmaniasis visceral y 0,7 a 1,2 millones de casos de Leishmaniasis cutánea en humanos, cada año. Usando una tasa de mortalidad del 10%, se estimó que las muertes por año por Leishmaniasis son de 20,000 a 40,000. Croacia tuvo una incidencia anual estimada de 6 a 8 casos durante el periodo 2004-2008.

Athanasiou et al. (2012), estimaron la prevalencia regional de seropositividad canina a *Leishmania spp.* en el territorio de Grecia, dividido en 7 regiones, utilizando un total de 2620 muestras de suero extraídas de perros clínicamente sanos. Como resultado se obtuvo que la tasa de seroprevalencia en todo el estudio fue del 20%, siendo la región más predominante la de Attiki, con un 30,12% y la menos predominante la de Florina, con un 2,05%. No se encontraron diferencias en lo que respecta al sexo del paciente, el largo del pelaje o su utilidad, pero sí se encontró que la seroprevalencia fue significativamente mayor en los perros de edad de 1-3 años (23,39%) y 3-9 años (23,35%) a comparación de perros jóvenes (2,26%) o gerontes (6,03%).

Ferreira (2015), investigó la vulnerabilidad de la ciudad de São Paulo a la ocurrencia de Leishmaniasis visceral, usando parámetros de casos humanos reportados, la presencia del vector y la infección en el reservorio doméstico; los métodos que se utilizaron fueron una encuesta de 140 casos humanos reportados del 2007 al 2014, un análisis estadístico de la presencia de insectos usando el índice de diversidad de Shannon-Weaver y pruebas PCR de 31 muestras de los caninos de la zona. Como resultado se obtuvo que existe 2 focos infecciosos principales (el primero los distritos de Brás y Guaianases y el segundo los distritos de Carrao, Cachoeirinha y José Bonifácio), además un total de 3,660 especímenes de moscas de arena

fueron recolectados, representando 16 especies, siendo las más comunes *Pintomyia fischeri* (82.46%), *Psathyromyia pascalei* (5.57%), *Migonemyia migonei* (5.25%) y *Expapillata firmatoi* (3.22%), solo una hembra de una especie similar a *Lutzomyia longipalpis* fue capturada. El análisis sanguíneo de los caninos mostró que, de las 31 muestras analizadas con PCR, 10 fueron positivas a *Leishmania* sp., seis de ellas fueron identificadas, tres como *L. shawil/L. lainsoni* y tres como *L. infantum chagasi*. En conclusión, se demostró que la Leishmaniasis es una enfermedad emergente con diseminación activa y presencia de casos autóctonos de transmisión.

Silva et al. (2017), tuvieron como objetivo probar la hipótesis de que un nuevo iniciador específico de especie (Lch14:Lch15) era una herramienta eficiente para el diagnóstico de *L. infantum*, analizando la presencia de ADN de *L. infantum* en muestras de sangre periférica de 69 perros callejeros y se realizó una prueba de PCR convencional y a tiempo real para comparar resultados. Se obtuvo como resultado que el 73% de ellos fue positivo a *Leishmania spp.* y el 58% a *L. infantum* en ambas pruebas.

Lazari et al. (2016), identificó la especie *Leishmania* en perros de la ciudad de Jaciara, comparando resultados de PCR del bazo, médula ósea, piel y sangre de 101 perros con suero reactivo a Leishmaniasis visceral. Como resultado se obtuvo que el tejido del bazo mostró mayor porcentaje de detección, seguido de la médula ósea. En 97 (96,04%) perros, el género de *Leishmania* fue confirmado como *L. chagasi*.

García & Parada (2019), establecieron la presencia de anticuerpos contra *L. infantum*, *L. donovani*, entre otros patógenos en caninos de Bucaramanga, Floridablanca y Piedecuesta utilizando muestras de sangre entera de 212 perros de albergues y 124 perros con propietario, las cuales fueron sometidas a pruebas de SNAP Leish de IDEXX-Lab. Como resultado se obtuvo una prevalencia para *Leishmania* sp. De 3,5%, siendo los perros de albergue los que

presentaron mayor prevalencia de enfermedad, especialmente aquellos de albergues rurales, con un 83% frente a los perros con propietario, con un 14%. Además, se observó que, a mayor edad, mayor probabilidad de ser prevalentes.

Miró et al. (2012), determinaron la prevalencia de anticuerpos anti-*L. infantum* en perros callejeros viviendo en albergues del norte de España y evaluar el estado clínico de los seropositivos, utilizando muestras de 418 perros. Como resultado se obtuvo una seroprevalencia de 3% en las costas de Cantabria, y de 35,6% en Orense, donde también se encontró la presencia del vector *Phlebotomus perniciosus*. La seropositividad de *L. infantum* estuvo relacionado a la edad, siendo mucho mayor en perros jóvenes (0 a 3 años) y mayores (> 7 años) que en adultos. Se observaron signos clínicos en el 41,3% de los perros seropositivos.

Le Rutte et al. (2021), identificaron la incidencia de Leishmaniasis canina en España y Francia en el periodo 2016-2017, utilizando una encuesta online dirigida a los veterinarios de estos países. Como resultado se obtuvo que el promedio de incidencia en las clínicas veterinarias fue de 21 casos de Leishmaniasis canina por cada 1000 perros en un año, lo cual fue mayor en España (31/1000 perros/año) que en Francia (6/1000 perros/año).

Cavalera et al. (2021), evaluaron las variaciones estacionales en los títulos de anticuerpos anti-*Leishmania infantum* en caninos de una zona hiperendémica de Leishmaniasis canina en Italia, utilizando muestras serológicas de perros seropositivos, clínicamente sanos, en junio de 2019 (estación de la mosca de la arena) y nuevamente en febrero a marzo 2020 (época libre de transmisión) para monitorear el estado clínico y títulos serológicos de los pacientes a través de la prueba de IFI. Como resultado se obtuvo una reducción en los títulos de anticuerpos anti-*Leishmania infantum* durante la época libre de transmisión en la mayoría de los perros (55,4%), y el 44% de los caninos se volvieron seronegativos (títulos menores a 1:80).

Živičnjak et al. (2005), determinaron la seroprevalencia de *Leishmania* sp. en perros aparentemente sanos en un área donde la Leishmaniasis canina es endémica, utilizando muestras de 68 perros que vivían en la ciudad costera de Split, y 238 perros que vivían en 12 pueblos en las áreas remotas de Dalmacia. Se utilizó la prueba de ELISA para detectar anticuerpos anti-*Leishmania*. Como resultado se obtuvo una seroprevalencia de 0% a 42,85%, dependiendo de la ubicación; la seropositividad en la población canina de Split fue de 14,7%, y en los 8 pueblos donde se encontró la enfermedad, varió entre 7,1% a 42,8%. El 54,34% de los perros seropositivos tenían linfonódulos moderadamente incrementados de tamaño y/o cambios discretos en la piel; algunos de ellos no tenían ningún signo clínico. La seropositividad a *Leishmania* sp. no estuvo relacionado con el estilo de vida del canino y su utilidad, pero sí estuvo relacionada con el sexo y edad; la mayoría de perros positivos tuvieron entre 73 a 84 y 37 a 48 meses de edad; la seroprevalencia en machos fue mayor, con un 19,31%, comparado con un 9,23% en hembras.

Živičnjak et al. (2011), determinaron la seropositividad de Leishmaniasis en perros en Kaštela y otras localidades de la ciudad de Šibenik-Knin, 2,5 años luego de la suspensión de las medidas de control de Leishmaniasis canina, utilizando muestras serológicas de 74 perros aparentemente sanos. Como resultado se obtuvo una seropositividad del 13,5%.

Mrljak et al. (2017), investigaron la seroprevalencia de *L. infantum*, entre otros patógenos, utilizando muestras de 435 perros aparentemente sanos, elegidos al azar, de 13 diferentes locaciones en Croacia. Como resultado se obtuvo que *L. infantum* tuvo una seroprevalencia menor al 2% (1,38%), siendo el 50% de los animales positivos, machos y todos eran de raza mestiza y provenían de albergues en Dubrovnik, ciudad que pertenece a la región de Dalmacia.

IV. HIPÓTESIS

Hipótesis General

¿Será la frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia, en el periodo 2019-2021, menor al 2%?

Ho: La frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia, en el periodo 2019-2021, es menor al 2%.

Ha: La frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia, en el periodo 2019-2021, es mayor al 2%.

Hipótesis específicas

- ¿Será la frecuencia de Leishmaniasis anual en el albergue Beštie en Croacia, menor al 2%?
 - Ho: La frecuencia anual de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia, es menor al 2%.
 - Ha: La frecuencia anual de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia, es mayor al 2%.
- ¿Será el verano la estación con mayor frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia?
 - Ho: El verano es la estación con mayor frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.
 - Ha: El verano no es la estación con mayor frecuencia de Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.
- ¿Serán los machos más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia?

- Ho: Los machos son los más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.
- Ha: Los machos no son los más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.
- ¿Serán los adultos más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia?
 - Ho: Los adultos son los más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.
 - Ha: Los adultos no son los más propensos a contraer Leishmaniasis en el albergue Beštie en Croacia.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Ejecución

La investigación se realizó en el albergue Beštie ubicado en Kaštel Sućurac (Coordenadas: 43.550821, 16.415207), en la región de Dalmacia, Croacia. El periodo considerado para la data a recolectar fue a partir del 01 de enero del año 2019 hasta el 31 de diciembre del año 2021.

La región de Dalmacia se encuentra en la costa sur de Croacia y es considerada zona rural (Demonja, 2014). Esta región se extiende entre la isla de Rab en el noroeste y la frontera de Montenegro en el sureste (Luciano, 2018). Está conformada por las ciudades desde Zadar hasta Dubrovnik, incluyendo las islas que se distribuyen a lo largo de la costa (Brač, Hvar, Vis, Korčula, entre otras). Limita con Montenegro, Bosnia y Herzegovina en el sureste, con las regiones Gorski Kotar y la Costa Norte de Croacia en el noroeste y comparte límites marítimos con Italia en el oeste y sur oeste, donde se encuentra el mar Adriático (Tokić et al., 2020).

Kaštel Sućurac es un centro poblado perteneciente a la ciudad de Kaštela, la cual es una aglomeración de 7 centros poblados distribuidos alrededor de 7 castillos, tiene alrededor de 40,000 habitantes (6,829 pertenecen a Kaštel Sućurac) y tiene una longitud total de 20 km (CHC & EHV, 2017).

Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo descriptiva, retrospectiva, y transversal ya que se obtuvo la data de las historias clínicas almacenadas durante el periodo mencionado.

Variables independientes

- Sexo del paciente
- Grupo etario del paciente
- Años

- Estaciones

Variable dependiente

- Test de *Leishmania*

Operacionalización de las variables

Objetivos Específicos	Variable	Indicador	Escala de medida	Instrumento	Categorización de la variable
Determinar la frecuencia anual de Leishmaniasis canina en el albergue Beštie en el periodo 2019-2021.	Test de <i>Leishmania</i>	Positivo o negativo	%	Historia clínica	Cualitativa: Nominal
	Años	Periodo: 2019-2021	%	Calendario	Intervalar
Determinar la relación de animales positivos con la estación en el albergue Beštie en el periodo 2019-2021.	Test de <i>Leishmania</i>	Positivo o negativo	%	Historia clínica	Cualitativa: Nominal
	Estación del año en Croacia	Primavera (20.3-20.6) Verano (21.6-21.9) Otoño (22.9-20.12) Invierno (21.12-19.3)	%	Calendario	Intervalar

Determinar la frecuencia de Leishmaniasis canina según el sexo de los caninos del albergue Beštie en el periodo 2019-2021.	Test de <i>Leishmania</i>	Positivo o negativo	%	Historia clínica	Cualitativa: Nominal
	Sexo	Sexo del individuo (hembra o macho)	%	Historia clínica	Cualitativa: Nominal
Determinar la frecuencia de Leishmaniasis canina según el grupo etario de los caninos del albergue Beštie en el periodo 2019-2021.	Test de <i>Leishmania</i>	Positivo o negativo	%	Historia clínica	Cualitativa: Nominal
	Grupo etario del paciente	Grupo etario: Cachorro (0-12 meses) Adulto (13-96 meses) Geronte (mayor a 96 meses)	%	Historia clínica	Intervalar

Muestreo

La población estuvo conformada por las historias clínicas de los perros sometidos a la prueba de descarte de *Leishmania* previo a un viaje al exterior, o aquellos animales que hayan presentado signos sospechosos durante la cuarentena, en el albergue Beštie durante el periodo

2019-2021. Todos los perros fueron considerados mestizos según la normativa del EKC (European Kennel Club) ya que estos no cuentan con certificación oficial de un linaje puro.

Procedimientos y Análisis de Datos

Una vez obtenidos todos los datos, se organizaron en tablas de Excel donde se detallaron el sexo y edad del paciente, así como el resultado positivo o negativo de la prueba de *Leishmania* y la fecha en la que esta se realizó. Todos los datos se separaron por año y estación.

Una vez procesados todos los datos antes mencionados, se obtuvieron los valores porcentuales de la población en cada año, así como la cantidad de hembras y machos, la edad promedio, representada en meses, junto con su desviación estándar respectiva y el mínimo y máximo de edad para cada uno. Luego, se procedió a analizar la cantidad de positivos por año y por estación, obteniendo el porcentaje de frecuencia anual y de cada estación. A continuación, se calculó el porcentaje de frecuencia según el sexo y grupo etario de los pacientes. Finalmente, se compararon los resultados utilizando la prueba de *Chi* cuadrado, para ver si hubo relación entre la presencia/ausencia de la enfermedad según el tiempo, el sexo y el grupo etario de los pacientes.

Aspecto ético

Para la realización de este proyecto se contó con el permiso y consentimiento de Zvonimir Filipović, jefe administrativo del albergue Beštje.

Según el artículo 14 del acuerdo universitario, la Universidad Ricardo Palma, 2021, manifiesta que “*La investigación se debe realizar siguiendo los lineamientos de los protocolos de trabajos bien proyectos en el marco de la ética de las buenas prácticas investigativas. Las observaciones, trabajos experimentales y recogida de datos, deben realizarse de manera correcta, con rigor, inteligencia, honestidad y veracidad*”.

VI. RESULTADOS

En el presente estudio se revisaron un total de 230 historias clínicas del albergue Beštie, correspondientes a los animales que mostraron signos de sospecha de Leishmaniasis y/o aquellos que iban a viajar a Alemania para ser adoptados, en el período 2019-2021. De este total, 33 correspondían a la especie felina, quedando un total de 197 registros analizados.

Tabla 1. *Frecuencia de Leishmaniasis, según el año; centro poblado Kaštel Sućurac, periodo 2019-2021.*

Año	N positivos	N total	% anual	% total
2019	2	72	2.78%	1.02
2020	9	83	10.84%	4.57
2021	0	42	0.00%	0.00
TOTAL	11	197	5.58%	5.58

Fuente: Elaboración propia – 2022

En la tabla 1 se observa que la cantidad total de positivos en todo el período 2019-2021 fue de 11 ejemplares, representando el 5,58% de la población total. En el año 2019, hubo solo 2 ejemplares positivos, representando el 2,78% de la población de ese año y el 1,02% de la población total. En el año 2020, hubo un total de 9 ejemplares positivos, representando el 10,84% de la población de ese año y el 4,57% de la población total. En el año 2021 no se encontró ningún ejemplar positivo.

Según la prueba de independencia de chi-cuadrado, no hubo diferencias significativas entre los años ($X^2 = 5,75$; $p = 0,056$).

Tabla 2. Frecuencia de Leishmaniasis, según el sexo; centro poblado Kaštel Sućurac, periodo 2019-2021.

Sexo	N positivos	N total	%
Macho	9	100	9.00
Hembra	2	97	2.06
TOTAL	11	197	5.58

Fuente: Elaboración propia – 2022

En la tabla 2 se observa la frecuencia de Leishmaniasis, según el sexo. En todo el periodo de estudio, el 9% de los machos fueron positivos; mientras que solo el 2,06% de las hembras fueron positivas.

Se realizó la prueba de independencia de chi-cuadrado para examinar la relación entre el sexo del paciente y la presencia de Leishmaniasis. La relación entre estas variables fue significativa, ($X^2 = 4,50$; $p = 0,034$). Los machos tuvieron mayor probabilidad que las hembras a ser positivos a la patología.

Tabla 3. Frecuencia de Leishmaniasis, según el grupo etario; centro poblado Kaštel Sućurac, periodo 2019-2021.

Edad	N positivos	N total	%
Cachorro	0	89	0.00
Adulto	8	101	7.92
Geronte	3	7	42.86
TOTAL	11	197	5.58

Fuente: Elaboración propia – 2022

En la tabla 3 se observa que en total hubo 89 ejemplares que se encontraban dentro del grupo etario de cachorro, considerado desde los 0 hasta los 12 meses de edad. De estos, ninguno de los ejemplares salió positivo. La mayoría de los ejemplares se encontraba en la categoría de adultos, considerada a partir de los 13 hasta los 96 meses de edad, con un total de 101, de los cuales el 7,92% fueron positivos a Leishmaniasis. Solo hubo siete ejemplares

dentro de la categoría geronte, considerada por encima de los 96 meses de edad, de los cuales el 42,86% resultaron positivos a la enfermedad.

La prueba de independencia de chi-cuadrado demostró diferencias significativas según el grupo etario ($X^2 = 20,97$; $p = 0,000028$). La probabilidad de ser positivos a Leishmaniasis incrementó con la edad.

Tabla 4. *Frecuencia de Leishmaniasis, según la estación del año; centro poblado Kaštel Sućurac, periodo 2019-2021.*

Estación	N positivos	N total	%
Invierno	2	68	2.94
Primavera	8	71	11.27
Verano	1	27	3.70
Otoño	0	31	0.00
TOTAL	11	197	5.58

Fuente: Elaboración propia – 2022

En la tabla 4 se observa la frecuencia de positivos a Leishmaniasis, según la estación del año. Se observó que, en invierno, hubo un total de 2 ejemplares positivos (2,94%). Primavera fue la estación más predominante, con 11,27% de caninos positivos a Leishmaniasis. En verano solo hubo un animal positivo (3,70%), mientras que en otoño no hubo ninguno.

La prueba de dependencia de chi-cuadrado demostró que no hubo diferencia significativa entre las estaciones del año ($X^2 = 5,22$; $p = 0,16$).

VII. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue obtener los datos de frecuencia de animales positivos a Leishmaniasis en el albergue Beštie ubicado en Kaštel Sućurac, en la región de Dalmacia, en Croacia, durante el periodo 2019-2021 y relacionar los resultados con el sexo y grupo etario del paciente, así como la estación del año en que se realizó la prueba.

La Leishmaniasis canina puede ser encontrada de manera generalizada en la Cuenca del Mediterráneo, con una seroprevalencia que varía entre 10% hasta 37%, pudiendo llegar a 53,1% en algunos focos en Italia (Miró et al., 2012; Mrljak et al., 2017; Živičnjak et al., 2005). Posiblemente debido al calentamiento global, se han reportado casos de Leishmaniasis canina en focos fuera de los países mediterráneos, como por ejemplo Hungría, Alemania y el norte de España (Mencke, 2011; Miró et al., 2012; Mrljak et al., 2017). Esta enfermedad fue considerada un problema en Croacia por primera vez a inicios del siglo 20. A pesar de ser una enfermedad reemergente en el área del Mediterráneo, no ha sido monitoreada y documentada de manera sistémica. Se estima que por lo menos 2,5 millones de caninos están infectados en el sudoeste de Europa (Mrljak et al., 2017; Živičnjak et al., 2007, 2011).

En el presente estudio, a partir de los hallazgos encontrados en las 197 historias clínicas revisadas, se obtuvo como frecuencia total de 5,58% en todo el periodo mencionado, lo cual es mayor al resultado obtenido por Mrljak et al., en el año 2017, el cual fue del 1,38%. Esto podría estar relacionado con la diferencia en el tamaño de la muestra, ya que en aquel estudio se seleccionaron de manera aleatoria 435 caninos de 13 localizaciones diferentes en Croacia; cabe resaltar, además, que los ejemplares elegidos se mostraban aparentemente sanos, mientras que para el presente estudio se utilizaron historias clínicas tanto de animales clínicamente sanos, como de aquellos que presentaban signos compatibles con la enfermedad. En aquella investigación también se utilizó la prueba SNAP *Leishmania* de IDEXX para detectar

anticuerpos de *L. infantum*, la cual tiene una sensibilidad del 91,1% y una especificidad del 98,3%. Tan solo seis de los 435 caninos analizados dieron positivo a *L. infantum*, tres de ellos tenían edades de 12-35 meses, dos 36-50 meses, y uno era mayor a 84 meses; en comparación, en el presente estudio la edad mínima de los animales positivos fue de 25 meses y la máxima de 124 meses, siendo la edad promedio de 26 meses con una desviación estándar de 31 meses. Además, en los resultados obtenidos por Mrljak et al., los machos representaron el 50% de los animales positivos, mientras que en el presente estudio, el 82%. En ambas investigaciones, todos los animales analizados pertenecieron a albergues.

Se cree que la existencia de albergues para animales callejeros que aceptan a cualquier individuo, sin tomar en cuenta su condición clínica, en áreas donde la Leishmaniasis es endémica, contribuye al mantenimiento y transmisión de esta (Mrljak et al., 2017).

La Leishmaniasis canina es considerada una enfermedad reemergente en la región de Dalmacia desde 1997, sobre todo en la parte central y sur; durante 2003 la seropositividad en Split llegó al 15%. Se han encontrado ejemplares de *Phlebotomus neglectus*, *Phlebotomus perfiliewi* y *Phlebotomus tobbi* en la región costera de Dalmacia, los cuales son vectores comprobado del agente protozoario *L. infantum*, siendo *P. tobbi* el más abundante (75,9%) y la especie más asociada con los hábitats donde los perros estaban presentes. *P. papatasi* estuvo presente en un 12,2% y se encontró en gallineros, jaulas caninas y habitaciones (Mrljak et al., 2017; Živičnjak et al., 2005, 2011). En un estudio realizado por Živičnjak et al., en el año 2011, se observó que la prevalencia de hembras de *P. neglectus* alimentándose de sangre humana alcanzó el 30%. La ciudad de Kaštela se encuentra en esta región, al igual que Dubrovnik, la cual obtuvo una tasa de anticuerpos de *L. infantum* significativamente mayor a otras ciudades, en el estudio de prevalencia antes mencionado (Mrljak et al., 2017). Otro estudio realizado en la ciudad costera de Split y en el interior de las regiones de Split, confirmó una seroprevalencia entre el 0% al 42,85%, dependiendo de la región (Živičnjak et al., 2005).

Živičnjak et al. (2007) determinó que la seropositividad de los caninos en toda el área enzoótica de Dalmacia registrada durante el año 2005 fue del 7,9% y en el 2006, en el condado de Dubrovnik-Neretva, fue del 8%. Estos números incrementaron en un estudio publicado en el 2011 por el mismo autor, donde se hizo una encuesta de 74 caninos aparentemente sanos, provenientes de Kaštela y otras localidades de la ciudad de Šibenik-Knin, dando como resultado una seropositividad total del 13,5%, siendo Rudine el lugar con mayor porcentaje (31%).

Generalmente, la Leishmaniasis es endémica solamente en el medio y el área sur de Dalmacia y los flebótomos se encuentran activos durante los periodos más cálidos del año. Debido al curso crónico de la enfermedad, algunos animales pueden haber sido expuestos a los vectores 1, 2 o 3 años antes de presentar algún signo clínico (Mrljak et al., 2017). En la región del Mediterráneo, los caninos pueden ser expuestos a picaduras de flebótomos desde inicios de abril hasta noviembre (Cavalera et al., 2021). Cavalera et al. (2021), realizó una investigación para determinar las variaciones en los títulos de anticuerpos contra Leishmaniasis en muestras de 65 perros clínicamente sanos, seropositivos a *L. infantum*, según la estación, en el sur de Italia, tomando como época de transmisión a finales de junio de 2019 (primavera-verano) y la época de no transmisión de febrero a marzo de 2020 (invierno). Esa área de estudio es considerada endémica para la Leishmaniasis y la temporada de flebótomos normalmente dura desde finales de mayo a finales de octubre, con dos picos durante julio y agosto. Como resultado, obtuvo que hubo una reducción en los títulos de anticuerpos contra Leishmaniasis durante la época de no transmisión en la mayoría de los caninos (55,4%) y que 44% de estos se volvieron seronegativos, lo cual demuestra el comportamiento estacional de la enfermedad. A pesar de esto, en el presente estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según la estación, aunque primavera fue la que tuvo mayor frecuencia (11,27%). No obstante, cabe resaltar que las estaciones se agruparon de manera diferente. Además, el

tiempo de seroconversión luego de la picadura de un flebótomo infectado puede ocurrir entre 1 a 22 meses, con un tiempo medio de 3 a 5 meses, en caninos infectados de manera experimental y natural, respectivamente (Cavalera et al., 2021). Ya que no se sabe exactamente el momento de exposición de los caninos, cabe la posibilidad que aquellos que dieron negativo en la prueba de descarte aún no hayan pasado por el proceso de seroconversión; es por esto por lo que es de suma importancia volver a realizar las pruebas de descarte luego de un periodo de tiempo determinado; medida que aún no ha sido implementada.

Estudios seroepidemiológicos de Leishmaniasis canina han revelado un gran número de animales seropositivos asintomáticos, incluso aseguran que, en áreas endémicas, el 60-80% de la población canina ha entrado en contacto con el parásito sin exhibir algún signo de la enfermedad. Se sabe que la habilidad de infectar a los vectores es similar tanto en animales asintomáticos como en aquellos con diferentes grados de signos clínicos de la enfermedad (Živičnjak et al., 2005, 2011). En el albergue donde se realizó el presente estudio, solo se someten a la prueba de descarte de Leishmaniasis a aquellos caninos que muestren signos clínicos compatibles con la patología o a aquellos que van a ser transportados fuera del país. No obstante, al ser una enfermedad transmisible por vectores, lo recomendable sería realizar una prueba a todos los caninos que ingresen al albergue, luego de un periodo de cuarentena. Teniendo en cuenta que no hay un protocolo definido de testeo a todos los animales del albergue, podemos inferir que los datos de frecuencia del estudio no son completamente exactos, es por esto por lo que es necesario realizar más estudios una vez se implementan nuevas medidas de control y prevención de esta enfermedad, como lo son las pruebas periódicas y obligatorias a todos los individuos, ya que el presente estudio sugiere una elevación en la frecuencia de Leishmaniasis.

El análisis de sangre obligatorio de todos los perros que presenten los signos clínicos evidentes de Leishmaniasis, en los condados de Dalmacia, están decretados por la Ley de

Atención Veterinaria, en Croacia (Živičnjak et al., 2005). No obstante, esto no toma en cuenta el problema con los animales asintomáticos, como se mencionó anteriormente. En un estudio realizado por Živičnjak et al., en el año 2005, se analizaron 306 muestras de sangre de perros aparentemente sanos, de los cuales 46 dieron un resultado positivo. Los caninos provenían de la ciudad de Split y de 8 pueblos cercanos. La seropositividad media en la ciudad de Split fue del 14,7% y en los pueblos varió entre 7,1% a 42,8%; valores mayores al porcentaje obtenido en el presente estudio. Las diferencias en la prevalencia en las distintas localizaciones fueron estadísticamente significativas, siendo los pueblos con mayor posibilidad de tener caninos positivos a Leishmaniasis, Zagvozd, Žeževica y Klis, los cuales se encuentran a 74, 66 y 16 km de Kaštela, respectivamente. Los caninos positivos a Leishmaniasis tenían mayor probabilidad de tener entre 73-84 meses y 37-48 meses. En el presente estudio, se observó que la probabilidad de ser positivo aumentaba con la edad, siendo el grupo etario geronte (mayor a 96 meses) los cuales presentaron un mayor porcentaje (42,86%), la razón de este patrón probablemente esté relacionada con un mayor tiempo exposición a la picadura de flebótomos en animales de edad avanzada (Barati et al., 2015).

Al igual que en investigaciones antes mencionadas y en los resultados obtenidos en el presente estudio, los machos fueron quienes presentaron mayor porcentaje de seropositividad (19,31%) comparado con las hembras (9,23%) en la investigación conducida por Živičnjak et al., en el 2005. Se cree que esta diferencia puede ser debido al incremento en la mortalidad femenina debido a la gestación y lactancia. Otra teoría es el posible rol de inmunomodulación que cumple la testosterona, sin embargo, esto aún no ha sido estudiado a profundidad (Živičnjak et al., 2005). Se sabe que los caninos machos naturalmente infectados tienen una alta frecuencia de lesiones inflamatorias con amastigotes intralesionales, particularmente en el epidídimo, glande y prepucio, especialmente en perros sintomáticos y que estos liberan parásitos a través del semen. Por otro lado, en hembras puede haber solo dermatitis vulvar,

sugiriendo que *L. infantum* no parece tener tropismo por el tracto reproductivo femenino, por lo que parece que la transmisión sexual suele ser unidireccional, siendo más eficiente la transmisión de un macho infectado a una hembra susceptible (Turchetti et al., 2014), lo cual significaría que los machos serían una fuente de infección de mayor importancia que las hembras, mas no necesariamente que tienen mayor probabilidad a presentar la enfermedad. No obstante, existen diversos estudios que muestran mayor prevalencia en machos que en hembras, posiblemente debido a una mayor dificultad de mantener saludables a los machos, en comparación con las hembras (Barati et al., 2015).

Miró et al. (2012), realizó un estudio en 418 perros de albergues del norte de España y encontró que la seropositividad de *L. infantum* fue significativamente mayor en caninos de 0 a 3 años (13,7%) y en mayores a 7 años (13,5%), comparado con los adultos de 3 a 7 años (5,4%). En el presente estudio, la frecuencia de Leishmaniasis canina en cachorros fue del 0%, mientras que en gerontes fue del 42,86%, sin embargo, este último grupo se consideró a partir de los 8 años y no desde los 7 como en el estudio anterior. En ambas investigaciones, los albergues estaban situados en áreas rurales y los caninos vivían en el exterior donde se encontraban expuestos a las picaduras de flebótomos. El norte de España es considerado una zona no endémica, sin embargo, la seroprevalencia obtenida fue mayor en Orense (35,6%) que la obtenida en el presente estudio, el cual fue realizado en un área endémica (5,58%). Esto puede ser debido a que, probablemente, las características bioclimáticas actuales de esa área geográfica son comparables con la presencia y transmisión de *L. infantum*, según los modelos de predicción descritos para otras regiones de Europa. Ejemplares de *P. perniciosus* y *P. ariasi* fueron encontrados en los albergues provenientes de esa zona, ya que las condiciones climáticas eran adecuadas para el desarrollo de estos (Miró et al., 2012; Salomón et al., 2012). Miró et al. no logró encontrar una relación entre la presencia de Leishmaniasis y el sexo del paciente, ya que la seroprevalencia en machos fue de 10,9% y la de hembras fue de 11,3%; lo cual, si se ha

logrado demostrar en el presente estudio, con un 9% de machos positivos, comparado con un 2,06% de hembras positivas ($p < 0,05$).

La determinación exacta del número de perros que presentan esta patología es complicada, ya que muchos propietarios prefieren la eutanasia antes de realizar la prueba de descarte y sin consultar al médico veterinario, a pesar de que este servicio es ofrecido de manera gratuita para aquellos caninos que exhiban signos clínicos evidentes de la enfermedad. Además, el Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Gestión del Agua de Croacia decretó la medicación con alopurinol para los casos confirmados de Leishmaniasis canina entre los años 2002 a 2005. Durante este periodo también se implementaron esfuerzos para monitorear serológicamente a la población canina asintomática en el área endémica. Lamentablemente, en 2005, esta medida se consideró muy costosa, por lo que fue suspendida en el 2006. Debido a esto, ha sido imposible organizar un monitoreo generalizado por la falta de financiamiento económico; actualmente el tratamiento de los perros infectados no se encuentra regulado, los médicos veterinarios pueden sugerir la medicación, sin embargo, nadie es responsable por controlar la implementación de esta (Živičnjak et al., 2005, 2011).

VIII. CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos, la frecuencia de Leishmaniasis en caninos en el albergue Beštie ubicado en Kaštel Sućurac, en la región de Dalmacia, en Croacia en el periodo 2019-2021, fue de 5,58%, lo cual fue mayor al 2% planteado en la hipótesis.

La frecuencia de Leishmaniasis en caninos dentro del albergue, en el año 2019 fue de 2,78%; en el 2020, fue de 10,84%; y en el 2021, fue del 0%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre cada año estudiado.

La estación de primavera tuvo la mayor cantidad de animales positivos, con un porcentaje del 11,27%. La estación menos predominante fue el invierno, con solo un 2,94%. En verano hubo una frecuencia del 3,70% y en otoño no se encontraron animales positivos. No obstante, los resultados demostraron que, estadísticamente, en este estudio no hubo relación entre la estación del año y la presencia de la enfermedad.

Dentro de la población canina estudiada, los machos tuvieron una frecuencia de Leishmaniasis del 9%, mientras que las hembras tuvieron solo el 2,06%. Se observó que la probabilidad de ser positivo a la patología fue mayor en machos que en hembras.

En lo que respecta a la edad, los caninos dentro del grupo etario geronte fueron los que tuvieron mayor frecuencia, con un porcentaje del 42,86%; mientras que los cachorros no presentaron ningún ejemplar positivo. Los caninos dentro del grupo etario adulto tuvieron una frecuencia del 7,92%. Se demostró que la probabilidad estaba directamente relacionada con la edad.

Podemos concluir que se encontró una posible fuente de infección en el área y los resultados fueron mayores a los esperados en las hipótesis planteadas según el estudio más reciente de Leishmaniasis en Croacia; no obstante, se debe tomar en cuenta que puede haber un número mayor de caninos positivos a esta patología pero que no presentan los signos

clínicos necesarios para ser sometidos a la prueba de descarte. Existe la necesidad de realizar un muestreo más a profundidad tomando en cuenta una mayor población y área de estudio. Además, debe reevaluarse la confiabilidad del examen clínico para definir qué perro debe ser sometido a la prueba de Leishmaniasis en un área endémica.

IX. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas de Leishmaniasis de manera periódica y a toda la población que ingrese al albergue para así poder tener una data más exacta de la frecuencia de esta enfermedad.

Incorporar en estudios futuros los registros de individuos de la especie felina que se encuentran dentro del albergue.

Realizar estudios de titulación de anticuerpos para poder determinar la carga parasitaria promedio de la población.

Continuar con las pruebas de Leishmaniasis previas a salir del país y cuando se encuentre a algún animal con signos compatibles con la enfermedad.

Generar información sobre el curso de esta enfermedad, la cual debe ser informada a los propietarios sobre todo de zonas consideradas endémicas.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acero, V., Ángel, P., Fonseca, E., Ferrer, L., & Roura, X. (2015). Canine Leishmaniosis: Tools for diagnosis in veterinary practice in Colombia. *Revista MVZ Cordoba*, 20(3), 4822–4842. <https://doi.org/10.21897/rmvz.52>
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., & de Boer, M. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE*, 7(5), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Athanasiou, L. V., Kontos, V. I., Saridomichelakis, M. N., Rallis, T. S., & Diakou, A. (2012). A cross-sectional sero-epidemiological study of canine leishmaniasis in Greek mainland. *Acta Tropica*, 122(3), 291–295. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.02.003>
- Baneth, G., Nachum-Biala, Y., Zuberi, A., Zipori-Barki, N., Orshan, L., Kleinerman, G., Shmueli-Goldin, A., Bellaiche, M., Leszkowicz-Mazuz, M., Salant, H., & Yasur-Landau, D. (2020). Leishmania infection in cats and dogs housed together in an animal shelter reveals a higher parasite load in infected dogs despite a greater seroprevalence among cats. *Parasites and Vectors*, 13(115), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3989-3>
- Barati, M., Mohebbali, M., Alimohammadian, M., Khamesipour, A., Akhoundi, B., & Zarei, Z. (2015). Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence survey of asymptomatic dogs in an endemic area of northwestern Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, 39(2), 221–224. <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0325-2>
- Bedford E. (2020). *Dog and cat population worldwide*. Statista. <https://bit.ly/3F00ttr>
- Berriatua, E., Maia, C., Conceição, C., Özbek, Y., Töz, S., Baneth, G., Pérez-Cutillas, P., Ortuño, M., Muñoz, C., Jumakanova, Z., Pereira, A., Rocha, R., Monge-Maillo, B., Gasimov, E., van der Stede, Y., Torres, G., & Gossner, C. M. (2021). Leishmaniasis in

- the European Union and neighboring countries. *Emerging Infectious Diseases*, 27(6), 1723–1727. <https://doi.org/10.3201/eid2706.210239>
- Cavalera, M. A., Iatta, R., Panarese, R., Mendoza-Roldan, J. A., Gernone, F., Otranto, D., Paltrinieri, S., & Zatelli, A. (2021). Seasonal variation in canine anti-*Leishmania infantum* antibody titres. *Veterinary Journal*, 271(105638), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105638>
- CHC, & EHV. (2017). *European Heritage Volunteers Partner Project: Revitalisation of the Two Towers of Kaštela, Croatia*. <https://bit.ly/3t0Yh2G>
- Demonja, D. (2014). The Overview and Analysis of the State of Rural Tourism in Croatia. *Sociologija i Prostor*, 52(1), 69–90. <https://doi.org/10.5673/sip.52.1.4>
- Farkas, R., Tánzos, B., Bongiorno, G., Maroli, M., Dereure, J., & Ready, P. D. (2011). First surveys to investigate the presence of canine leishmaniasis and its phlebotomine vectors in Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(7), 823–834. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0186>
- Fenn, A. (2021, January 19). *Tackling Eastern Europe's stray dogs crisis*. CGTN. <https://bit.ly/3FbZkzm>
- Ferreira, A. (2015). *Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo* [tesis de doctorado, Universidade de São Paulo]. www.teses.usp.br
- García, M. A., & Parada, L. J. (2019). *Tamizaje de 5 agentes zoonóticos en caninos domésticos y de albergues de Bucaramanga, Floridablanca y Piedecuesta, Santander* [tesis de pregrado, Universidad de Santander]. <https://repositorio.udes.edu.co>
- Gonella, F., Brocca, G., Cristiano, S., & Khoury, N. (2019). When Systemic Sustainability is an Everyday Struggle: an Emergy-based Analysis of a Dog Shelter. *Emergy Synthesis*, 10.

<https://bit.ly/3FNJlbP>

Guerrero, J. (2014). Zoonosis parasitarias en medicina canina. In L. Ontiveros (Ed.), *XIV Congreso Nacional de AVEACA – XI Congreso FIAVAC* (Vol. 53, Issue 9, pp. 1689–1699). Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina. <https://bit.ly/3F6qmIj>

Gunter, L., Feuerbacher, E., Gilchrist, R., & Wynne, C. (2019). Evaluating the effects of a temporary fostering program on shelter dog welfare. *PeerJ*, 2019(3). <https://doi.org/10.7717/peerj.6620>

Hoffman, C., Ladha, C., & Wilcox, S. (2019). An actigraphy-based comparison of shelter dog and owned dog activity patterns. *Journal of Veterinary Behavior*, 34, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2019.08.001>

Honse, C., Figueiredo, F., De Alencar, N., Madeira, M., Gremião, I., & Schubach, T. (2013). Disseminated intravascular coagulation in a dog naturally infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* from Rio de Janeiro - Brazil. *BMC Veterinary Research*, 9(43), 1–5. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-43>

Howse, J. (2019). *Croatia*. Weigl Publishers Incorporated. <https://bit.ly/3rfZpgv>

IDEXX Laboratories Inc. (2011). *IDEXX SNAP® Tests Antigen (Ag) or Antibody (Ab) 2 Blood (Anticoagulant-Treated Whole Blood; Serum/Plasma) 3 CL= Confidence Limit 4 Correlation with Spec cPL® test*. www.idexx.eu

Juričev-Sudac, K. (2016). *Analiza online komunikacije najvećih skloništa za nezbrinute životinje u Hrvatskoj (studija slučaja)* [master's thesis, University of Zagreb]. <https://urn.nsk.hr/>

Jurković, D., Beck, A., Huber, D., Mihaljević, Ž., Polkinghorne, A., Martinković, F.,

- Lukačević, D., Pilat, M., Brezak, R., Bosnić, S., & Beck, R. (2019). Seroprevalence of vector-borne pathogens in dogs from Croatia. *Parasitology Research*, *118*(1), 347–352. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6129-7>
- Landau, R., Beck, A., Glickman, L., Litster, A., Olynk Widmar, N., & Moore, G. (2016). Use of veterinary services by Latino dog and cat owners with various degrees of English-language proficiency. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *248*(6), 681–689. <https://doi.org/10.2460/javma.248.6.681>
- Larkin, M. (2021, November 17). *Pet population still on the rise, with fewer pets per household*. American Veterinary Medical Association. <https://bit.ly/3pLMwLx>
- Lazari, P., Ferreira de Almeida, A., Dutra, V., Nakazato, L., De Lima, A., Nogueira de Brito, V., Oliveira, C., & Franco, V. (2016). Leishmania chagasi em cães no município de Jaciara, Mato Grosso, Brasil. *Ciencia Rural*, *46*(2), 315–317. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150126>
- Le Rutte, E., van der Wilt, L., Bulstra, C., Nieboer, D., Kontoroupi, P., de Vlas, S., & Richardus, J. H. (2021). Incidence and geographical distribution of canine leishmaniosis in 2016—2017 in Spain and France. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, *25*(100613), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100613>
- Luciano, C. (2018, February 3). *Everything You Need to Know about the Five Croatia Regions*. CroatiaWise. <https://www.croatiawise.com/croatia-regions.html>
- Lue, T., Pantenburg, D., & Crawford, P. (2008). Impact of the owner-pet and client-veterinarian bond on the care that pets receive. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *232*(4), 531–540. <https://doi.org/10.2460/javma.232.4.531>
- Maia, C., & Cardoso, L. (2015). Spread of Leishmania infantum in Europe with dog travelling.

Veterinary Parasitology, 213(1–2), 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.05.003>

Mencke, N. (2011). The importance of canine leishmaniosis in non-endemic areas, with special emphasis on the situation in Germany. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 124(11/12), 443–449. <https://doi.org/10.2476/0005-9466-124-444>

Mihaljević, A. (2016). *Country Report on National Stray Dogs situation Report from Republic of Croatia* (Issue June). <https://bit.ly/3qBelow>

Miró, G., Checa, R., Montoya, A., Hernández, L., Dado, D., & Gálvez, R. (2012). Current situation of *Leishmania infantum* infection in shelter dogs in northern Spain. *Parasites and Vectors*, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-60>

Mrljak, V., Kuleš, J., Mihaljević, Z., Torti, M., Gotić, J., Crnogaj, M., Zivičnjak, T., Mayer, I., Šmit, I., Bhide, M., & Barić Rafaj, R. (2017). Prevalence and geographic distribution of vector-borne pathogens in apparently healthy dogs in Croatia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(6), 398–408. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1990>

Mulić, R., Čustović, A., Ropac, D., Tripković, I., Stojanović, D., & Klišmanić, Z. (2009). Occurrence of visceral and cutaneous leishmaniasis in Croatia. *Military Medicine*, 174(2), 206–211. <https://doi.org/10.7205/MILMED-D-58-5608>

Oliva, G., Roura, X., Crotti, A., Maroli, M., Castagnaro, M., Gradoni, L., Lubas, G., Paltrinieri, S., Zatelli, A., & Zini, E. (2010). Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(11), 1192–1198. <https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1192>

Paltrinieri, S., Solano-Gallego, L., Fondati, A., Lubas, G., Gradoni, L., Castagnaro, M., Crotti, A., Maroli, M., Oliva, G., Roura, X., Zatelli, A., & Zini, E. (2010). Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American*

Veterinary Medical Association, 236(11), 1184–1191.
<https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1184>

Pennisi, M. G. (2015). Leishmaniosis of companion animals in Europe: An update. *Veterinary Parasitology*, 208(1–2), 35–47. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.023>

Protopopova, A. (2016). Effects of sheltering on physiology, immune function, behavior, and the welfare of dogs. *Physiology and Behavior*, 159(15), 95–103.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.020>

Raphelson, S. (2017, December 29). No “Easy Answer” To Growing Number Of Stray Dogs In The U.S., Advocate Says. National Public Radio. <https://n.pr/3mQpWiL>

Salomón, O., Quintana, M., Mastrángelo, A., & Fernández, M. (2012). Leishmaniasis and climate change-Case study: Argentina. *Journal of Tropical Medicine*, 2012, 1–11.
<https://doi.org/10.1155/2012/601242>

Santini, M., Salomón, O., Acardi, S., Sandoval, E., & Tartaglino, L. (2010). Lutzomyia longipalpis behavior and control at an urban visceral Leishmaniasis focus in Argentina. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 52(4), 187–191.
<https://doi.org/10.1590/S0036-46652010000400004>

Silva, R., Richini-Pereira, V., Kikuti, M., Marson, P., & Langoni, H. (2017). Detection of Leishmania (L.) infantum in stray dogs by molecular techniques with sensitive species-specific primers. *Veterinary Quarterly*, 37(1), 23–30.
<https://doi.org/10.1080/01652176.2016.1252073>

Šimić, S. (2021). *Sustav za pomoć u udomljavanju napuštenih životinja* [undergraduate thesis, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek]. <https://urn.nsk.hr>

Tasker, L. (2011). *Stray Animal Control Practices (Europe)*. www.wspa-international.org

- Taylor, P., Funk, C., & Craighill, P. (2006). Gauging family intimacy: Dogs edge cats (dads trail both). In *Pew Research Center*. <http://pewresearch.org>
- Thielke, L., & Udell, M. (2020). Characterizing human–dog attachment relationships in foster and shelter environments as a potential mechanism for achieving mutual wellbeing and success. *Animals*, *10*(1), 67. <https://doi.org/10.3390/ani10010067>
- Tokić, S., Žiškova, V., Štefanić, M., Glavaš-Obrovac, L., Marci, S., Samardžija, M., Sikorova, K., & Petrek, M. (2020). HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, and -DQB1 allele and haplotype frequencies defined by next generation sequencing in a population of East Croatia blood donors. *Scientific Reports*, *10*(5513), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62175-9>
- Turchetti, A., Souza, T., Paixão, T., & Santos, R. (2014). Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. In *Journal of Infection in Developing Countries* (Vol. 8, Issue 4, pp. 403–407). *Journal of Infection in Developing Countries*. <https://doi.org/10.3855/jidc.4108>
- Universidad Ricardo Palma. (2021). *Oficio N°2159-2021/SG-URP*.
- Uprava za Veterinarstvo. (2010). *Program kontrole populacije pasa lutilica u Republici Hrvatskoj*. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. <https://bit.ly/3qFex6v>
- Vinnie-Siow, W., Low, V., Tan, T., Teoh, Y., Prakash, B., & Lim, Y. (2021). Serological survey of canine vector-borne diseases in two animal shelters in central peninsular malaysia. *Tropical Biomedicine*, *38*(1), 145–149. <https://doi.org/10.47665/tb.38.1.025>
- Živičnjak, T., Martinković, F., Beck, R., & Marinculić, A. (2007). Canine Leishmaniosis Spread in Croatia: Feasibilities of PCR-Based and Serological Monitoring Activities. *International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance*.

<https://www.bib.irb.hr/330483>

Živičnjak, T., Martinković, F., Khoury, C., Bongiorno, G., Bosnić, S., Lukačević, D., & Maroli, M. (2011). Serological and entomological studies of canine leishmaniosis in Croatia. *Veterinarski Arhiv*, *81*(1), 99–110.

Živičnjak, T., Martinković, F., Marinculić, A., Mrljak, V., Kučer, N., Matijatko, V., Mihaljević, Ž., & Barić-Rafaj, R. (2005). A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. *Veterinary Parasitology*, *131*(1–2), 35–43.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.036>

XI. ANEXOS

Anexo 1. Cantidad de la población por año, según el sexo; y la edad promedio, representada en meses.

Año	N	%			\bar{x} edad	\pm DE	Mín	Máx
2019	72	36.55	Machos		20	23	2	104
			N	%				
			30	15.23	42	21.32		
2020	83	42.13	Machos		33	35	3	152
			Hembras					
			N	%	N	%		
			47	23.86	36	18.27		
2021	42	21.32	Machos		25	25	3	101
			Hembras					
			N	%	N	%		
			23	11.68	19	9.64		
TOTAL	197	100	100	50.76	97	49.24	26	30
			2		2		152	

Fuente: Elaboración propia – 2022

Anexo 2. Cantidad de la población por estación, según el sexo; y la edad promedio, representada en meses.

Estación	N	%			\bar{x} edad	\pm DE	Mín	Máy		
Invierno	68	34.52			38	39	3	152		
			Machos		Hembras					
			N	%	N	%				
			36	18.27	32	16.24				
Primaver	71	36.04			18	20	3	103		
a			Machos		Hembras					
			N	%	N	%				
			40	20.30	31	15.74				
Verano	27	13.71			21	16	4	65		
			Machos		Hembras					
			N	%	N	%				
			12	6.09	15	7.61				
Otoño	31	15.74			23	26	2	104		
			Machos		Hembras					
			N	%	N	%				
			12	6.09	19	9.64				
TOTAL	197	100	100	50.76	97	49.24	26	30	2	152

Fuente: Elaboración propia – 2022

Anexo 3. Cantidad de la población, según sexo; y la edad promedio, representada en meses.

Sexo	N	\bar{x} edad	\pm DE	Mín	Máx
Macho	100	33	34	3	152
Hembra	97	20	22	2	104
TOTAL	197	26	30	2	152

Fuente: Elaboración propia – 2022

Anexo 4. Consentimiento informado



FUNDACIÓN BESTIE

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, Zvonimir Filipović
 autorizo a la Bachiller Alessandra Turcarelli a utilizar las historias clínicas registradas en el centro animal NO KILL Animalis Centrum, en el periodo 2015-2021 con el propósito de realizar la tesis de pregrado "Frecuencia de Leishmaniasis en caninos (*Canis lupus familiaris*) en un albergue en Croacia – Región de Dalmacia, periodo 2015-2021" con el fin de obtener el título de médica veterinaria.

La información así obtenida será, guardada confidencialmente y solo será utilizada como datos agrupados, para realizar la tesis de pregrado, cuyos resultados se darán a conocer.

Split, 03 de enero de 2022

Firma del interesado
 DNI...74044754

Ul. Ivana Kukuljevića Sakcinskog 1, 21000, Split