

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra veterinárních disciplín**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Leishmanióza u psů**

**Bakalářská práce**

**Tereza Klimešová**

**Veterinární asistent**

**MVDr. Martina Načeradská, Ph. D.  
Prof. MVDr. Miroslav Svoboda, CSc.**

© 2024 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Leishmanióza u psů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 28.04.2024

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala MVDr. Martině Načeradské, Ph. D., za vynikající vedení mé bakalářské práce. Její odborná pomoc, trpělivost a podnětné připomínky byly neocenitelné při mé práci. Velké díky náleží také prof. MVDr. Miroslavu Svobodovi, CSc., za cenné konzultace klinického případu, které mi poskytl. Bez jeho expertních znalostí by tato práce nebyla tak komplexní. Děkuji celé mé rodině a přátelům za neustálou podporu a povzbuzení během celého procesu tvorby této práce. Zvláštní uznání patří rodině Lvových za ochotu a poskytnutí důležitých informací, což výrazně přispělo k úspěšnému dokončení tohoto projektu. Vaše podpora mi byla obrovskou oporou a já jsem za ni velmi vděčná. V poslední řadě bych ráda poděkovala panu Michalu Kalbáčovi, jehož profesionální fotodokumentace mi obohatila mou práci.

# Leishmanióza u psů

## Souhrn

Leishmanióza u psů je zoonotické onemocnění, které je způsobeno parazitickými prvky rodu *Leishmania*. Existuje mnoho druhů *Leishmania*, které mohou infikovat psy, z nejvíce rozšířených to jsou *L. infantum* a *L. chagasi*. Infekce se na zvířata a lidi přenáší kousnutím infikovaných hmyzích vektorů z rodu *Phlebotomus* a *Lutzomyia*, existují však také další alternativy přenosu bez vektora. Toto onemocnění je rozšířené v subtropických a tropických oblastech, ale vyskytuje se i v mírném pásmu ve více než 98 zemích. Nejčastěji postihuje oblasti Evropy, Afriky, Asie, Jižní a Střední Ameriky, a USA, s endemickými oblastmi především na pobřeží Středozemního moře.

Leishmanióza u psů se projevuje rozmanitými a nespecifickými klinickými příznaky, mohou zahrnovat lymfadenopatii, dermatologické a neurologické abnormality, až po selhání orgánů. Většina psů proto uhynie v důsledku selhání jater nebo ledvin.

Diagnostika leishmaniózy zahrnuje anamnézu, epidemiologický kontext, klinické vyšetření a laboratorní testy. Na průkaz onemocnění u psů existuje velká škála přímých i nepřímých diagnostických metod. Nejvíce používanou metodou je mikroskopický průkaz amastigotních stádií nebo metoda PCR, nejlépe z kostní dřeně. Během terapie monitorujeme funkci ledvin, proteinurii a pokles zánětlivé odpovědi. Mezi nejběžněji dostupné sérologické metody se řadí nepřímý fluorescenční test na protilátky (IFAT) a enzymatická imunoanalýza, (ELISA). Diferenciální diagnostiku komplikuje vysoký výskyt souběžných infekcí v endemických oblastech, a proto ji lze snadno zaměnit za jiné onemocnění.

Leishmaniózu lze úspěšně potlačit apikací léku Milteforanu v kombinaci s Allopurinolem. Léčba je zaměřena na zmírnění příznaků, neboť kompletní vyléčení není možné. Léky pomáhají potlačit vývojový cyklus parazita a musí být často podávány doživotně.

Prevence leishmaniózy spočívá v minimalizaci expozice psů s infikovanými přenašeči pomocí různých fyzických bariér nebo repelentů, které jsou ve formě sprejů, obojků a spot-on. Kombinace opatření může být účinná při ochraně psů před touto chorobou. Včasná léčba a prevence mohou snížit riziko vzniku vážných příznaků a komplikací.

Jedním z dalších účinných preventivních opatření je vakcinace, která sice zcela neodstraňuje riziko nákazy, ale výrazně ho snižuje, stejně tak jako progresi onemocnění. Vakcíny obsahují oslabené nebo inaktivované formy parazita, které stimulují imunitní systém psa k vytvoření specifické imunitní odpovědi. Vakcinace umožňuje lépe chránit psy hlavně v endemických oblastech.

Jedním klinickým případem byl i pes Lex, který onemocněl leishmaniózou na dovolené v Itálii, u kterého se začalo s léčbou po prvních projevech klinických příznaků v roce 2022.

**Klíčová slova:** pes, *Leishmania*, *Phlebotomus*, rezervoár, importovaná infekce

# Leishmaniasis in dogs

## Summary

Leishmaniasis in dogs is a zoonotic disease caused by parasitic protozoa of the genus *Leishmania*. There are many species of *Leishmania* that can infect dogs, the most prevalent being *L. infantum* and *L. chagasi*. Infection is transmitted to animals and humans by the bite of infected insect vectors of the genera *Phlebotomus* and *Lutzomyia*, but there are also other alternatives to vectorless transmission. The disease is widespread in subtropical and tropical regions, but also occurs in temperate regions in more than 98 countries. It most commonly affects areas of Europe, Africa, Asia, South and Central America, and the USA, with endemic areas mainly on the Mediterranean coast.

Leishmaniasis in dogs manifests with diverse and nonspecific clinical signs, and may include lymphadenopathy, dermatologic and neurologic abnormalities, up to and including organ failure. Most dogs therefore die as a result of liver or kidney failure.

Diagnosis of leishmaniasis includes history, epidemiologic context, clinical examination, and laboratory tests. There are a large variety of direct and indirect diagnostic methods to detect the disease in dogs. The most widely used method is microscopic demonstration of amastigote stages or PCR, preferably from bone marrow. During therapy, we monitor renal function, proteinuria and the decline in inflammatory response. The most commonly available serological methods are indirect fluorescent antibody test (IFAT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Differential diagnosis is complicated by the high incidence of co-infections in endemic areas and can therefore be easily confused with other diseases.

Leishmaniasis can be successfully suppressed by the administration of Milteforan in combination with Allopurinol. Treatment is aimed at alleviating the symptoms as a complete cure is not possible. The drugs help to suppress the developmental cycle of the parasite and must often be given for life.

Prevention of leishmaniasis involves minimizing exposure of dogs to infected carriers by using various physical barriers or repellents that come in the form of sprays, collars and spot-on. A combination of measures can be effective in protecting dogs from this disease. Early treatment and prevention can reduce the risk of developing serious symptoms and complications.

One other effective preventive measure is vaccination, which, while not completely eliminating the risk of infection, significantly reduces it, as well as the progression of the disease. Vaccines contain weakened or inactivated forms of the parasite that stimulate the dog's immune system to mount a specific immune response. Vaccination allows dogs to be better protected, especially in endemic areas.

One clinical case was Lex, a dog who contracted leishmaniasis while on holiday in Italy, for which treatment was started after the first signs of clinical symptoms in 2022.

**Keywords:** dog, *Leishmania*, *Phlebotomus*, reservoir, imported infection

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Popis původce</b>	<b>3</b>
3.1.1	Epidemiologie	4
3.1.2	Patogeneze	5
3.1.2.1	Další způsoby přenosu	7
<b>3.2</b>	<b>Leismanióza u psa</b>	<b>8</b>
3.2.1	Klinické příznaky	8
3.2.2	Diagnostika onemocnění	11
3.2.2.1	Základní laboratorní testy	12
3.2.2.2	Parazitologická diagnostika	13
3.2.2.3	Molekulární diagnostika	14
3.2.2.4	Sérologická diagnostika	15
3.2.3	Terapie	15
3.2.4	Prevence	18
3.2.4.1	Obojky	20
3.2.4.2	Spot-on	20
3.2.4.3	Expozice	21
3.2.5	Vakcinace	22
<b>4</b>	<b>Případová studie</b>	<b>26</b>
<b>4.1</b>	<b>Popis pacienta</b>	<b>26</b>
<b>4.2</b>	<b>VETERINÁRNÍ PRACOVIŠTĚ 1</b>	<b>26</b>
4.2.1	Anamnéza	26
4.2.2	Klinické vyšetření	26
4.2.3	Laboratorní a jiná vyšetření	27
4.2.4	Diagnóza	27
4.2.5	Terapie	28
<b>4.3</b>	<b>VETERINÁRNÍ PRACOVIŠTĚ 2</b>	<b>28</b>
4.3.1	Anamnéza	28
4.3.2	Klinické vyšetření	28
4.3.3	Laboratorní a jiná vyšetření	29
4.3.4	Diagnóza	29
4.3.5	Terapie	29
<b>4.4</b>	<b>VETERINÁRNÍ PRACOVIŠTĚ 3</b>	<b>29</b>

4.4.1	Anamnéza .....	29
4.4.2	Klinické vyšetření .....	30
4.4.3	Laboratorní a jiná vyšetření .....	33
4.4.4	Diagnóza .....	43
4.4.5	Terapie .....	43
<b>5</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>48</b>
<b>7</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>62</b>





# 1 Úvod

Leishmanióza je vážné infekční onemocnění způsobené prvoky rodu *Leishmania*. Tito parazité infikují četné druhy savců, u kterých mohou způsobit smrtelné onemocnění (Gramiccia 2011; Lavitschka et al. 2018). K přirozené infekci dochází prostřednictvím kousnutí infikovaného hmyzu z rodu *Phlebotomus* nebo *Lutzomyia*, kteří jsou biologickými přenašeči tohoto onemocnění (Ribeiro et al. 2018). Psi jsou infikováni různými druhy *Leishmania*, ale jako hlavní patogen leishmaniózy u nich byla indentifikována *L. infantum* a *L. chagasi* (Gramiccia & Gradoni 2005). V Evropě se *Leishmania* vyskytuje zejména v oblasti Středomoří. Česká republika je leishmaniózou prostou zemí, avšak v minulosti zde byly již zaznamenány případy leishmaniózy u psů. Většina případů je ale spojena s cestováním psů do rizikových oblastí a následnou nákazou. Je proto důležité, aby majitelé psů, kteří do oblastí s vyšším výskytem leishmaniózy cestují, byli informováni o riziku nákazy a přijali odpovídající ochranu svých zvířat, včetně prevence proti hmyzu a pravidelné kontroly veterinárním lékařem po návratu z cest (Solano-Gallego et al. 2009; Ready, 2010).

Psi představují hlavní zoonotický rezervoár tohoto parazita a hrají klíčovou roli při přenosu na ostatní domácí zvířata a člověka. Díky monitorování je možné identifikovat rizikové oblasti, kde je vysoká prevalence nemoci, a cíleně provádět opatření ke kontrole nákazy. Cílené sledování leishmaniózy u psů je proto zásadní z důvodu nejen ochrany, zdraví a života samotných psů, ale také z hlediska veřejného zdraví a prevence šíření této závažné infekce. (Manzillo et al. 2006; Petersen 2022).

## **2 Cíl práce**

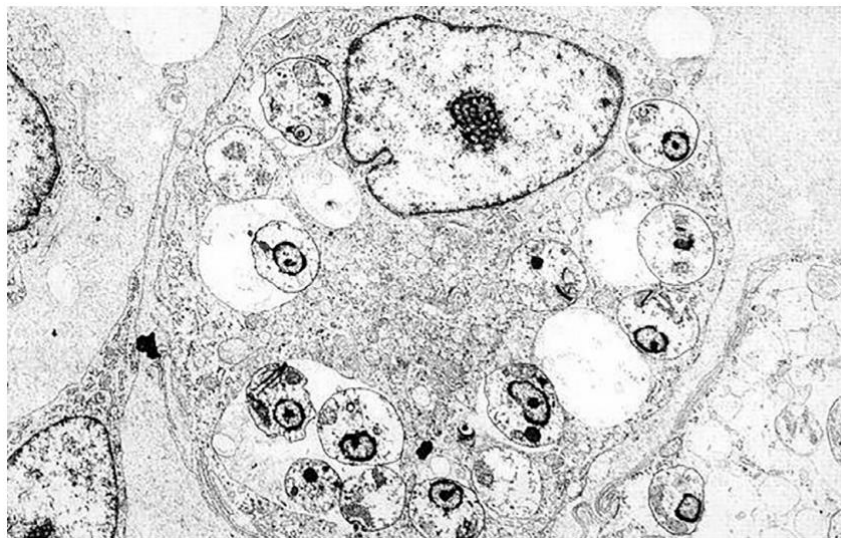
Cílem bakalářské práce bylo zpracovat souhrn aktuálních poznatků z vědecké literatury o leishmanióze u psa a popis průběhu onemocnění daného pacienta.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Popis původce

Leishmanióza je vektorem přenášené zoonotické onemocnění způsobené obligátními intracelulárními parazitickými prvky rodu *Leishmania*. Rod *Leishmania* (česky ničivky) se řadí do čeledi Trypanosomatidae, řádu Trypanosomatida (trypanosomy), třídy Kinetoplastida (bičivky), kmenu Euglenozoa (krásnoočka) (Desjeux 2004; Gramiccia 2011). Parazit je rozdělen do dvou hlavních skupin; na druhy Starého světa vyskytující se v Evropě, Africe a Asii, kde je hlavním patogenem *L. infantum*, a na druhy Nového světa vyskytující se v Americe, zejména v Brazílii a dalších zemích Latinské Ameriky. V Americe je hlavním patogenem *L. chagasi* (Alemayehu & Alemayehu 2017), který je geneticky nerozeznatelný od *L. infantum*. Psi se mohou nakazit různými druhy leishmanií, ve Starém světě to mohou být *L. tropica*, *L. major* a *L. donovani*, *L. tarentolae*. V Novém světě se pes kromě *L. infantum* (syn. *L. chagasi*) může nakazit druhy *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. panamensis*, *L. peruviana*, *L. amazonensis*, *L. pifanoi*, *L. colombiensis*, *L. guyanensis* (Gramiccia & Gradoni 2005; Baneth et al. 2017; Alanazi et al. 2019; Iatta et al. 2021). Bylo popsáno kolem 53 druhů parazitů z různých oblastí světa, z toho je u 31 druhů známo, že jsou parazity savců a asi 20 druhů je patogenních pro člověka a nejméně 12 z nich infikuje psy (Dantas-Torres 2007).

Druhy *Leishmania* mají heteroxenní životní cyklus. Parazit vykazuje ve svém životním cyklu dvě morfologické formy. V cytoplazmě savčích buněk uvnitř makrofágů se *Leishmania* vyskytuje jako amastigot (obr. 1). Je kulovitá a o průměru asi 2-6 μm. Jádro, které se skládá z krátkého bičíku, který je zapsuštěn v předním konci těla, aniž by vyčníval ven, a drobného, ale intenzivně zbarveného tyčinkovitého kinetoplastu, spojeného s bičíky. Ve střevech flebotoma, je *Leishmania* přítomna jako extracelulární promastigot. Promastigot je protáhlý a na předním konci má bičík pro aktivní pohyb. Promastigot je 15-30 μm dlouhý a asi 5 μm tlustý. Organismy se snadno barví barvením May-Gruenewald-Giemsa (Roze 2003; Saari et al. 2019).



**Obrázek 1:** Makrofág infikovaný leishmanií na snímku z transmisního elektronového mikroskopu. Viditelné formy parazitů jsou amastigoti, jádra amastigotů a příležitostně také kinetoplasty (Saari et al. 2000).

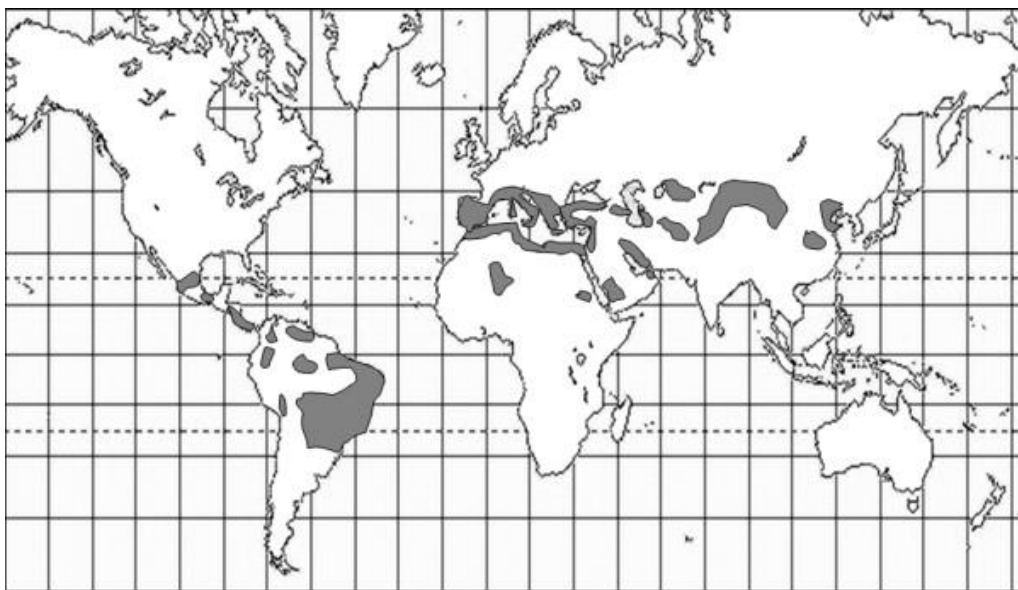
Leishmanióza se přenáší infikovanými přenašeči na zvířata a lidi. Až na některé výjimky jsou leishmaniózy zoonózami a infekce člověka je náhodná. Náhodný hostitel je označován

jako hostitel, který se nakazí pouze náhodně a nepřispívá k přenosu onemocnění. Naopak rezervoárový hostitel neboli přirozený rezervoár je hostitel, který dlouhodobě udržuje populaci patogenu a označuje přirozený zdroj k přežívání nákazy, která se u zkoumaného druhu objevuje jen zřídka ve formě epidemií a mezi jednotlivými epidemiemi v jeho populaci není přítomná (Ashford 1996). Přirozenými rezervoáry leishmanií jsou zejména hlodavci, volně žijící psovitě šlemy a psi, dále také jimi mohou být i vačnatci, sudokopytníci a opice. Psovitě šelmy jsou vhodnými rezervoáry *L. infantum*, a mnoho vlků, lišek a šakalů také přenáší parazita. Vzhledem k jejich nízkému počtu a vzdálenosti od obydlí ale nejsou považováni za hlavní rezervoáry (Alvar et al. 2004).

### 3.1.1 Epidemiologie

Leishmanióza u psů se vyskytuje zejména v subtropickém a tropickém pásmu, ale i na jihu mírného pásma ve více jak 98 zemích. (Ribeiro et al. 2018). Je rozšířena v Evropě, Africe, Asii, Jižní i Střední Americe a v USA (Alvar et al. 2004; Maia & Cardoso 2015; Petersen 2022). Její výskyt je zobrazen na obrázku 2 (Gramiccia 2011). V Evropě se endemická místa vyskytují především na pobřežích Středozemního moře, včetně evropských zemí Kypru, Řecka, Albánie, Chorvatska, Itálie, Malty, Francie, Španělska a Portugalska (Maia & Cardoso 2015). Každoročně postihuje leishmanióza přibližně 2,5 milionu psů ve středomořských a peri-středomořských oblastech (Miró et al. 2007).

Nejenom v endemických oblastech, ale také v neendemických zemích, kam byla nemoc importována, představuje onemocnění hlavní veterinární a veřejný zdravotní problém (Petersen 2022). Výskyt leishmanií vždy závisí na konkrétních podmínkách daného habitatu, který ovlivňuje přítomnost možných přenašečů i rezervoárového hostitele. Zprávy z různých zemí naznačují, že geografické oblasti leishmaniózy u psů se mění, rozšiřují se směrem k novým biotopům v severních zeměpisných šířkách a vyšších nadmořských výškách, a to v důsledku změn životního prostředí, jako jsou klimatické změny a ekologické i sociální faktory (Martín-Sánchez et al. 2009; Maia & Cardoso 2015). Těmito faktory je zejména rostoucí světový obchod, mezinárodní cestovní ruch, přeprava zvířat a krytí v zahraničí, které umožňují zvýšený pohyb psů přes hranice a mají nejvíce vliv na geografické rozšíření leishmaniózy. Globální oteplování a průměrná zvýšená teplota klimatu také podporuje vývoj, schopnost a početnost flebotomů (Maroli et al. 2008; Ready, 2010; Maia & Cardoso 2015). V některých případech byly autochtonní případy zjištěny v oblastech, které byly při aktivním sledování o rok dříve shledány negativními, což naznačuje rychlé šíření infekce (Gramiccia & Gradoni 2005). Status neendemického výskytu leishmaniózy u psů proto ještě neznamena, že se flebotomové v určitých oblastech nevyskytují (Poeppl et al. 2013). Studie ukázaly, že v oblastech, kde se leishmanióza psů endemicky vyskytuje, dochází k rozvoji onemocnění jen u malého procenta (~10 % nebo méně) psů, zatímco další značná část je klinicky zdravá, ale trvale infikovaná (Solano-Gallego et al. 2011).



**Obrázek 2:** Mapa rozšíření leishmaniózy způsobené *L. infantum* (syn. *L. chagasi*) (Gramiccia 2011).

Počet psů infikovaných leishmaniemi v některých neendemických zemích je pravděpodobně vyšší, než je známo. Podle odhadů žije přibližně 20 000 psů nakažených leishmaniemi v Německu (Naucke et al. 2013) a velký počet byl také zjištěn ve Spojeném království v roce 2011 (Shaw et al. 2009). Česká republika se řadí mezi evropské země bez výskytu autochtonních infekcí leishmaniózou u lidí i zvířat. Vektor na území České republiky nebyl nalezen. Ojedinelé případy importovaných leishmanióz u lidí, které se v České republice vyskytují, jsou povinně hlášeny. Od roku 2009 je v Evropské Unii povinně hlášena leishmanióza u domácích zvířat. Autochtonní přenos nebyl dosud v České republice prokázán. Studie Svobodová et al. (2017) v roce 2017 zaznamenali vertikální přenos *L. infantum* u psů v průběhu tří generací, přičemž první fena (č. 1) se pravděpodobně nakazila při cestě do Itálie z důvodu krytí v listopadu 2009. V lednu 2010 porodila 11 štěňat. V srpnu 2011 se u této feny objevilo kožní onemocnění, s rozvojem selhání ledvin, a proto byla v dubnu 2013 utracena bez stanovení specifické příčiny onemocnění. Jedna fena (č. 2) z lednového vrhu 2010 byla zdravá do roku 2014, kdy vrhla 9 štěňat, z nichž 6 přežilo. Po porodu se u ní objevily zdravotní obtíže s postižením kůže, zvětšením lymfatických uzlin bez reakce na běžnou léčbu. Sérologickým vyšetřením byla prokázána leishmanióza psů. Fena (č. 3) z vrhu feny (č. 2) narozená v lednu 2014 začala mít zdravotní obtíže v dubnu 2016. Vzhledem k anamnéze byla vyšetřena na leishmaniózu, která byla potvrzena. Fena č. 2 a 3 nikdy nevycestovaly z České republiky, k přenosu nákazy tedy došlo transplacentárně prostřednictvím dvou generací (Svobodová et al. 2017).

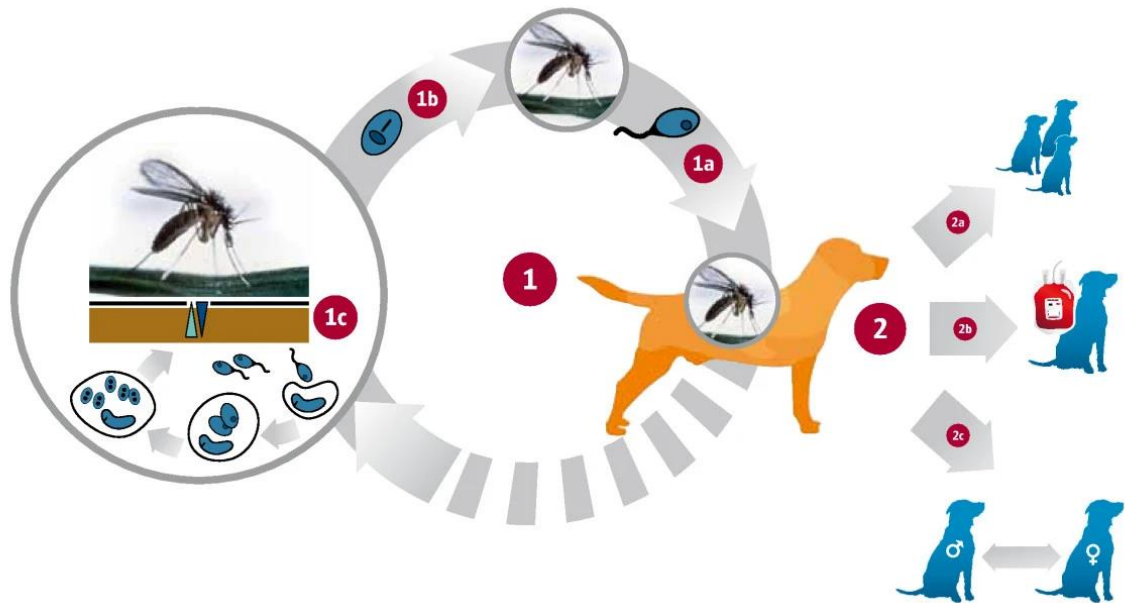
### 3.1.2 Patogeneze

*Leishmania* má dvouhostitelský (digenetický) životní cyklus (obr. 3), který probíhá mezi savcím (či plazím) hostitelem a hmyzím přenašečem, kterým jsou hlavně **flebotomové** (Carreira et al. 2014). Flebotomové jsou drobní dvoukřídlí komárci, velcí jen několik milimetrů (Morales-Yuste et al. 2022). Mezi více než 800 druhů flebotomů, je v současné době asi 98

druhů prokázaných nebo podezřelých přenašečů leishmaniózy (Maroli et al. 2013). Mezi nejvýznamnější přenašeče se řadí flebotomové z rodu *Phlebotomus* s více jak 40 druhy ve Starém světě a *Lutzomyia* s dalšími 30 druhy v Novém světě. Oba rody se řadí do řádu Diptera, čeledi Psychodidae a podčeledi Phlebotominae (Maroli et al. 2012).

Flebotomové se vyskytují hlavně v subtropickém a tropickém pásmu, ale s globálním oteplováním se výskyt některých druhů rozšiřuje severněji a zasahuje až po jih Střední Evropy (Carreira et al. 2014; Sáez et al. 2018; Morales-Yuste et al. 2022). V mírných oblastech je aktivita flebotomů omezena na teplé období, které trvá od pozdního jara do pozdního podzimu (duben až říjen), zatímco v tropických zemích se vyskytují po celý rok. Jejich aktivita se pohybuje mezi 15°C a 28°C, vždy ve spojení s vysokou vlhkostí a za nepřítomnosti extrémních povětrnostních podmínek, jako je déšť nebo silný vítr (Killick-Kendrick 1999, Maroli et al. 2013). Dospělci jsou aktivní hlavně večer, v noci a brzy ráno. Za příznivých podmínek může pes obdržet až 700 kousnutí během jediné noci (Bongiorno et al. 2013; Morales-Yuste et al. 2022). K přenosu dochází především na venkově a v příměstských oblastech, a to v domech se dvorem nebo zahradou. Ve středomořské oblasti, která zahrnuje jižní Evropu, severní Afriku a části Asie, bylo označeno za přenašeče *L. infantum* osm druhů *Phlebotomus*, kterými jsou *P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. kandelakii*, *P. perfiliewi*, *P. langeroni*, *P. tobbi* a *P. balcanicus* (Killick-Kendrick 1999; Ready 2013; Sáez et al. 2018).

Flebotomové se živí roslitnými šťávami. K přenosu leishmaniózy dochází ale během sání krve, kterou samice potřebují k vývoji svých vajíček, a přijímají tedy krevní potravu z obratlovců, především na málo ochlupených místech kůže, jako je hlava, nosní můstek, ušní boltce a tříselné a perianální oblasti (Killick-Kendrick 1999; Solano-Gallego et al. 2009). Když flebotom kousne nakaženého hostitele, pozře také makrofágy infikované zaoblenými a nepohyblivými formami amastigotů (Bates 2007; Dostálová & Volf 2012; Ayele & Seyoum 2016). Poté se paraziti transformují z amastigota do bičíkatého stádia **promastigota** (obr. 3.1a). Ten se stává pohyblivým a rozmnožuje se ve střevě samic flebotomů. Po dokončení trávení krevní moučky parazité migrují do předžaludku a ústních partií infikovaného vektoru, přeměňují se na nereplikující se infekční promastigoty a následným kousnutím hmyzem se ukládají do kůže nového hostitele, na kterém se flebotomové živí. Následně jsou opět fagocytovány makrofágy a cyklus bezobratlých je uzavřen (Carreira et al. 2014; Ayele & Seyoum 2016). Promastigoti poté ztrácejí bičík a stávají se málo pohyblivými, zakulacenými intracelulárními **amastigoty** (obr. 3.1b). Amastigotní formy se aktivně replikují v makrofázích, což vede k destrukci buněk a postupné infekci dalších fagocytů (Gradoni & Gramiccia 2008). Paraziti pronikají do orgánů, většinou do sleziny, jater, kostní dřeně, lymfatických uzlin a dalších tkáních (obr. 3.1c) (Bates 2007; Dostálová & Volf 2012). Ačkoli klinicky postižení psi jsou náchylnější k nákaze přenašečů, klinicky zdraví, ale infikovaní psi mohou rovněž přenášet parazity rodu *Leishmania* na flebotomy, a tím přispívat k udržení životního cyklu parazita (Molina et al. 1994, Bongiorno et al. 2013).



**Obrázek 3:** Vývojový cyklus *L. infantum* s uvedením možných cest přenosu na psy (Solano-Gallego et al. 2011). 1) Životní cyklus *Leishmania infantum*, 1a) promastigot, 1b) amastigot, 1c) šíření parazita do orgánů v makrofázích 2) Další neobvyklé způsoby přenosu, 2a) vertikální, 2b) transfúze krve, 2c) pohlavní přenos.

### 3.1.2.1 Další způsoby přenosu

Je zajímavé, že výskyt autochtonních případů leishmaniózy v místech, kde nebyla prokázána přítomnost flebotomů, naznačuje jiné cesty přenosu. Zejména **sexuální** (venerální) (obr. 3.2c) a **transplacentární** (vertikální – z feny na štěně) přenos (obr. 3.2a), jakož i **horizontální** (ze psa na psa) přenos prostřednictvím krve a krevní transfúze (obr. 3.2b), mohou mít epidemiologický význam při šíření a udržování onemocnění, zejména v nepřítomnosti biologického hmyzího vektoru (Rosypal et al. 2005b; Silva et al. 2009; Svobodová et al. 2017). Sexuální přenos u psů se zdá být rizikovější z infikovaného samce na vnímavou fenu (Turchetti et al. 2014). *Leishmania* sp. byla detekována v mnoha biologických vzorcích od mrtvě narozených nebo novorozených štěňat (Boggiatto et al. 2011), symptomatických nebo asymptomatických přirozeně infikovaných fen (Masucci et al. 2003), spojené s nekrotizující placentitidou a potratem (Dubey et al. 2005), nebo jakýmkoli makroskopickými či mikroskopickými změnami v placentě (Pangrazio et al. 2009). Za těchto okolností by infikované feny neměly být používány k reprodukčním účelům, aby se předešlo možnému riziku přenosu parazita na jejich potomky. Přítomnost životaschopných parazitů byla rovněž zaznamenána ve spermatu infikovaných psů (Diniz et al. 2005) a u přenosu pohlavní choroby na zdravé feny, které se pářily s více infikovanými samci (Silva et al. 2009). Riziko u přenosu infekce během krevní transfúze (Owens et al. 2001; LeishVet 2018) nebo z derivátů od infikovaných dárců (de Freitas et al. 2006), transplantace orgánů (Antinori et al. 2008) a sdílení kontaminovaných jehel (Morillas-Marquez et al. 2002), by měly být pečlivě zváženy. Jako příčina přenosu mezi psy se uvádí také přímý kontakt mezi psy prostřednictvím kousnutí nebo poranění (Naucke et al. 2016). Způsoby přenosu, které nejsou způsobeny flebotomy, hrají v přirozené historii a epidemiologii infekcí psů *L. infantum* pravděpodobně jen okrajovou roli,



nicméně veterinární lékaři by o nich měli vědět, zejména v neendemických oblastech (Solano-Gallego et al. 2011; Maia & Campino 2012).

## 3.2 Leishmanióza u psa

Leishmaniózou se může nakazit jakékoli psí plemeno, i když některá plemena, jako například německý ovčák, kokršpaněl, rotvajler a boxer, se zdají být k onemocnění náchylnější než jiná. Naopak bylo zjištěno, že ibizský ohař je odolnější vůči infekci *Leishmania*, protože vykazuje převážně buněčnou imunitní odpověď (Paltrinieri et al. 2010). Ačkoli je to sporné, riziko infekce může pravděpodobně u plemen ovlivnit i charakteristická délka srsti, která se u jednotlivých plemen psů značně odlišuje (Belo et al. 2013). Dále může existovat predispozice k pohlaví; psi mají údajně vyšší riziko onemocnění leishmaniózou než feny. Psi mohou být infikováni v jakémkoli věku, ale prevalence infekce v určitých věkových skupinách je nejvyšší u psů mladších 3 let a ve věku od 8 do 10 let (Alvar et al. 2004; Paltrinieri et al. 2010). Podle studie Shokri et al. (2017) prevalence významně závisí na věku a pohlaví psů. S věkem se zvyšovala a u fenek je nižší než u psů. Toulaví psi jsou častěji infikováni než psi v domácnosti a vyšší prevalence byla také popsána u venkovských psů oproti městským psům (Shokri et al. 2017). Větší míra infekce u pracovních plemen psů je pravděpodobně způsobena delším kontaktem s hmyzím vektorem ve venkovním prostředí. Stručně řečeno, zdá se, že šance na získání infekce leishmaniemi je nižší u fen smíšených plemen, s dlouhou srstí, chovaných v domácnosti nebo psů bez přítomnosti prostředí se zelení v blízkosti domova (Belo et al. 2013).

### 3.2.1 Klinické příznaky

Projev leishmaniózy se často výrazně odlišuje mezi jednotlivými psy jakožto jejími hostiteli. Hostitel, který nevykazuje žádný projev onemocnění, ale laboratorní testy ho potvrzují, se považuje za **asymptomatického hostitele** (LeishVet 2018; Sandler 2021). U psů mohou být identifikovány asymptomatické infekce, které představují buď fáze před chronickým průběhem onemocnění, nebo rezistentní formy, které se nakonec spontánně zotaví. Asymptomatictí psi s pozitivními výsledky sérologie nebo psi, kteří jsou opakovaně léčeni léky proti leishmaniím, jsou stále infekční jako psi symptomatictí (Molina et al. 1994; Michalsky et al. 2007). Pokud hostitel vykazuje klasické příznaky onemocnění, je označován za **symptomatického hostitele**. V případě, že se u hostitele projeví onemocnění v alespoň jednom z klasických symptomů či se jedná o mírnější nevýrazné příznaky onemocnění, označujeme tuto formu onemocnění za **subklinickou** (Michel et al. 2011; LeishVet 2018). Doposud není zcela zřejmé, co rozhoduje o tom, zda hostitel zůstane asymptomatický nebo se u něho onemocnění rozvine, pravděpodobně se jedná o komplexní interakci enviromentálních, parazitárních a hostitelských faktorů (Singh et al. 2014). Počet a intenzita klinických příznaků jsou určeny souborem faktorů zahrnujících kmen parazita, genetiku a imunitní stav hostitele. Někteří psi jsou tak schopni kontrolovat infekci po mnoho let, aniž by se u nich objevily klinické příznaky, a někdy může dokonce dojít ke spontánnímu vyléčení. Na druhé straně se u některých infikovaných psů může projevit akutní vývoj a závažné onemocnění nebo



progresivní průběh, který vede neúprosně k úhynu, pokud není započata správná léčba (Ribeiro et al. 2018). Účinnost imunitní odpovědi je zásadním aspektem v patogenezi onemocnění a jeho progresi a hraje klíčovou roli v klinických projevech leishmaniózy (Alvar et al. 2004).

Po nakažení psů mohou být klinické příznaky přítomny od tří měsíců do několika let. Mohou vést ke klinickým stavům, u kterých se projevuje variabilní a nespecifické spektrum příznaků, a proto není vždy snadné zhodnotit stav psa, protože leishmanióza je chronické a multisystémové onemocnění, které může potenciálně postihnout jakýkoli orgán (Koutinas & Koutinas 2014; Ribeiro et al. 2018). Nicméně v případě diagnostikování leishmaniózy by veterinární lékaři měli být schopni zařadit infekci nebo onemocnění do parazitologického a klinického stadia, aby mohli určit adekvátní léčbu nebo předpovědět progresi směrem k závažnějším a nezvratným stadiím onemocnění (Paltrinieri et al. 2010).

Existují dva známé **systemy** pro rozdělení leishmaniózy u psů do klinických stádií, mezi nimiž panuje dobrá shoda (Proverbio et al. 2016), a které přispívají ke stanovení přesnější diagnózy, prognózy a léčby (Solano-Gallego et al. 2009) tím, že rozdělují postižené jedince do skupin podle závažnosti jejich klinického obrazu. V systému **LeishVet** je onemocnění klasifikováno do čtyř vývojových stádií (stadium I: mírné onemocnění; stadium II: středně těžké onemocnění (substadium A a B); stadium III: těžké onemocnění; stadium IV: velmi těžké onemocnění) na základě fyzikálního a laboratorního vyšetření (Solano-Gallego et al. 2011). Systém **Canine Leishmaniasis Working Group (CLWG)** v tabulce 1 klasifikuje psy do pěti stádií (stadium A: exponovaní psi; stadium B: infikovaní psi; stadium C: nemocní psi (psi s klinicky zjevnou leishmaniózou); stadium D: těžce nemocní psi; stadium E: nereagující na léčbu nebo časný relaps) podle klinického stavu, v souvislosti s diagnostikou a klinicko-patologickými abnormalitami (Paltrinieri et al. 2010; Roura et al. 2013; Calier 2021).

*Tabulka 1: Stadia leishmaniózy psů podle Canine Leishmaniasis Working Group (Paltrinieri et al. 2010; Roura et al. 2013; Calier 2021).*

Stadium	Definice	Popis
<b>I.</b>	Exponovaní psi	psi, kteří jsou klinicky bez příznaků, mají nízký titr pozitivní sérologie a jsou negativní při PCR nebo cytologii.
<b>II.</b>	Infikovaní psi	středně těžké klinické onemocnění s nízkým až vysokým pozitivním titrem protilátek a některými klinickými příznaky, ale normálním renálním profilem. Mohou se u nich vyskytovat vředy na kůži, na sliznicích, krvácení z nozder, horečka a úbytek hmotnosti. Mírná proteinurie. PCR nebo cytologie v kostní dřeni, lymfatických uzlinách, slezině, kůži nebo periferní krvi je pozitivní.
<b>III.</b>	Klinicky nemocní psi	Těžké klinické onemocnění se středním až vysokým pozitivním titrem protilátek, klinickými nebo klinicko-patologickými změnami souvisejícími s chronickým onemocněním ledvin 1. nebo 2. stupně. Přítomny jsou také všechny výše uvedené příznaky především v oblasti očí, kloubů a ledvin.
<b>IV.</b>	Vážně klinicky nemocní psi	Velmi závažné onemocnění se středně vysokým až vysokým pozitivním titrem protilátek, konečné stadium onemocnění či chronickým selháním ledvin, těžkou proteinurií a doprovodnými souběžnými infekcemi jako je oční onemocnění, nádorová, endokrinní či metabolická onemocnění a onemocnění kloubů. Přítomny jsou také všechny výše uvedené příznaky, a navíc selhání orgánů zejména ledvin.
<b>V.</b>	Nereaguje na léčbu (Ea)	Psi, kteří nereagují na opakovanou léčbu leishmaniózy

Časný relaps (Eb)	Klinický relaps brzy po ukončení doporučené léčby
-------------------	---

*Leishmania* napadá většinu tkání a orgánů psů (Baneth & Aroch 2008). V napadených tkání psa lze nalézt makrofágy infikované *L. infantum*, kteří způsobují granulomatózní zánětlivé reakce vedoucí k většině symptomů. (Koutinas & Koutinas 2014). Jedním z nejčasnějších klinických příznaků onemocnění je patologické zvětšení uzlin, které postihuje především popliteální, preskapulární a submaxilární **lymfatické uzliny** (Lima et al. 2004). **Dermatologické abnormality** se objevují později a jsou časté a variabilní ve své charakteristice a šíření (Manzillo et al. 2013). Přibližně u 90 % těchto psů se vyskytují **kožní léze** (nodulární, ulcerózní a pustulární); dermatologické změny jsou však při absenci jiných příznaků onemocnění vzácné (Koutinas & Koutinas 2014). Klasické dermatologické projevy zahrnují odlupování kůže, dermatitidu bez pruritusu, s alopecií nebo bez ní, která může být lokalizovaná nebo diseminovaná; vředovitou, nodulární, papulární nebo pustulární dermatitidu; nazální hyperkeratózu; nazální depigmentaci. **Kůže** je u psů s leishmaniózou klíčovým orgánem, protože přítomnost parazitů je zde nezbytná pro přenos na vektora (Courtenay et al. 2014). Onychogryfóza neboli zvětšení a zakřivení drápů je velmi častá a je spojena s dermatitidou. Časté jsou také bledé sliznice a erytematózní reakce. Většina psů má špatnou tělesnou kondici nebo kachexii; obvykle jsou hubení a mají sklon k anorexii. Mezi další příznaky se řadí chronický zánět střeva, zvětšení sleziny a zvětšení jatera snížení objemu svalové tkáně (Solano-Gallego et al. 2011; Roura et al. 2013; Koutinas & Koutinas 2014), méně obvyklými a atypickými mohou být zánět kloubů a **neurologické projevy** (Sbrana et al. 2014; Giannuzzi et al. 2017). Může se také objevit poškození a onemocnění očí, protože blefaritida, uveitida a konjunktivitida jsou velmi časté. (Koutinas & Koutinas 2014; Corpas-López et al. 2016). U psů s leishmaniózou se obvykle vyskytuje epistaxe, hematurie a hemoragické průjmy způsobené poruchami koagulace (Koutinas & Koutinas 2014).

Jedním z cílových orgánů leishmaniózy u psů jsou **játra**, kde se *L. infantum* usazuje prostřednictvím invaze makrofágů neboli Kupfferových buněk. Parazitární infekce vede k zánětlivým změnám v játrech, včetně tvorby a zrání granulomů v tomto orgánu. Játra mají také imunitní funkce, jako je odstraňování patogenů a jejich antigenů z oběhu, a bylo zjištěno, že hepatocyty tuto funkci během leishmaniózy koordinují prostřednictvím aktivace zánětlivých mechanismů (Lima et al. 2019; Rodrigues et al. 2019).

U většiny infikovaných psů se objevuje **onemocnění ledvin**, které může být jediným klinickým projevem leishmaniózy u psů a může progradovat od mírné proteinurie až po konečné stádium selhání ledvin. Poškození ledvin může začít již na začátku infekce, ale projeví se až v pokročilých stádiích proteinurií a vysokou hladinou kreatininu v krvi. Chronické selhání ledvin je závažným důsledkem progresu onemocnění a je nejčastější příčinou úmrtí (Solano-Gallego et al. 2011; Roura et al. 2013).

Slezina je orgánem, ve kterém se vytváří odpověď na parazita (Maia & Campino 2012). Přítomnost amastigotů ve slezině vede ke zvětšení **sleziny** v důsledku zánětlivé infiltrace makrofágy, velké koncentraci parazitů a změn v mikrostruktuře tohoto orgánu. Podobný průběh lze nalézt i v játrech a některé případy progredují do hepatitidy (Rallis et al. 2005). Slezina spolu s kůží a kostní dřeví je jedním z nejvíce postižených orgánů během infekce (Fontes et al. 2021).

U psů s leishmaniózou může být postižena i **slinivka břišní**, ale množství parazitů je obvykle nízké. Studie prokázala, že *L. infantum* je jedním z patogenů chronické pankreatitidy u psů a zjistila souvislost špatné tělesné kondice a kachexie se současnou infekcí slinivky břišní, sleziny anebo kostní dřeně a naznačila, že tyto projevy jsou důsledkem pokročilejšího stadia leishmaniózy psů (Kost et al. 2021).

Leishmania se dostává až do **kostní dřeně**, ta je považována za nejhlubší orgán a je zodpovědná za přetrvání onemocnění, včetně relapsů. Hustota parazitů je v ní vysoká. Ačkoli je krvetvorba v časných stádiích onemocnění normální, parazitace kostní dřeně způsobuje změny v produkci buněk, což vede k poklesu počtu všech druhů krevních elementů pod dolní hranici normálních hodnot (pancytopenii) a chudokrevnosti, nedostatečné tvorbě krvinek v kostní dřeni. Všechny tyto změny se promítají do hematologických a koagulačních poruch (Manzillo et al. 2006).

Pro správné stanovení anamnézy je nezbytné zjistit, zda pes žije ve známé endemické oblasti nebo do ní cestoval, a byl tedy potenciálně vystaven flebotomových vektorům. Je také důležité zjistit, zda pes podstoupil preventivní léčbu, která je potenciálně účinná proti flebotomům, nebo zda mu byla podána léčba, která může narušit účinnost imunitního systému. Při odebrání anamnézy je třeba shromáždit informace o všech příznacích zjištěných majitelem, které odpovídají leishmanióze (Paltrinieri et al. 2010).

### 3.2.2 Diagnostika onemocnění

Diagnóza u psů musí být stanovena na základě anamnézy zvířete, epidemiologického kontextu, ve kterém se zvíře vyskytuje, klinických příznaků a výsledků základních laboratorních analýz, které detekují parazita nebo hodnotí imunitní odpověď hostitele (Paltrinieri et al. 2010; LeishVet 2018). Hlavními cíly diagnostiky je potvrzení onemocnění *Leishmania* u psů s klinickými příznaky nebo laboratorními změnami, které jsou slučitelné s infekcí a vyšetření klinicky zdravých psů žijící v endemických oblastech nebo cestující do nich či z nich. Jsou jimi hlavně dárci krve, chovní psi, psi před očkovaním proti leishmanióze a importovaní psi (LeishVet 2018).

Během **klinického vyšetření** lze detekovat široké a heterogenní spektrum klinických příznaků a lézí. Nejčastějšími klinickými příznaky leishmaniózy u psů je zvětšení lymfatických uzlin a kožní léze (viz kapitola Klinické příznaky) (Solano-Gallego et al. 2001). Skutečnost, že se u nakaženého psa nevyvinou závažné příznaky, nesnižuje závažnost případu, protože se stává součástí rezervoáru, kde původce žije a rozmnožuje se, což je klíčový faktor přenosu leishmaniózy (Calier 2021). Diferenciální diagnostiku komplikuje vysoký výskyt souběžných infekcí a nemocí v endemických oblastech jako je demodikóza, sarkoptový svrab, *pemphigus foliaceus*, *lupus erythematodes*, ehrlichioza, filarióza, brucelóza, babezióza, hepatozoonóza, lymfom, histoplazmóza, neoplazie, glomerulonefritida nebo polyartritida, a proto ji lze snadno zaměnit za jiné onemocnění. Diferenciální diagnózy kožních lézí u psů zahrnují dermatofytózu, pyodermii, malasseziovou dermatitidu, kožní vaskulitidu a *pemphigus foliaceus* (Roze 2003; Baneth & Aroch 2008).

Diagnostické metody jsou rozděleny do 2 hlavních kategorií: na **přímé** (cytologické hodnocení, histologické hodnocení, kultivace organismu a PCR analýza) a **nepřímé**

(sérologické testování a hodnocení buněčné imunitní odpovědi hostitele na parazita). Většina etiologických postupů je předávána referenčních diagnostických laboratořích, ty nejjednodušší (mikroskopie nebo rychlé imunochromatografické testy) lze provádět na klinice (Oliva et al. 2006; Paltrinieri et al. 2010; Gramiccia 2011). Potvrzení infekce lze získat použitím parazitologických, molekulárních, sérologických laboratorních metod (LeishVet 2018; Fernandez-Gallego et al. 2020; Morales-Yuste et al. 2022).

### 3.2.2.1 Základní laboratorní testy

Základní laboratorní testy zahrnují **krevní obraz, biochemickou analýzu séra, elektroforézu bílkovin** v séru a **vyšetření moči**. Tyto testy umožňují u leishmaniózy odhalit jednu nebo více změn spojených s onemocněním. Na základě výsledků těchto základních testů (tabulka 2) lze provést další laboratorní vyšetření (Martínez-Subiela et al. 2002; Bonfanti et al. 2004; Rosypal et al. 2005a; Gramiccia 2011).

Výrazná humorální odpověď, která se objevuje po infekci, způsobuje změny v elektroforetickém profilu plazmy a přispívá ke vzniku poškození orgánů, jako jsou ledviny, oči a kůže. Vysoké zatížení parazity v kostní dřeni a játrech navíc vyvolává patologické problémy související s funkcemi jater a krve (Ribeiro et al. 2013). Anémie je jedním z hlavních laboratorních nálezů na hemogramu. Je pravděpodobné, že na anémii se podílí více než jeden faktor, například krvácení, hemolýza, chronické selhání ledvin, hypoplazie nebo aplazie kostní dřene a snížená lipidová tekutost membrány erytrocytů (Luna et al. 2000; Ribeiro et al. 2018). Neregenerativní anémie naznačuje přinejmenším účast chronického zánětlivého onemocnění anebo poruchu erythropoézy v důsledku infekcí vyvolaných změn v kostní dřeni anebo ledvinách. Dysproteinemie je považována za jednu z nejdůležitějších změn při onemocnění (Ribeiro et al. 2013). Proteinová dysbalance je reprezentována zvýšením celkového množství sérových bílkovin (hyperproteinémie), hyperglobulinémií a hypoalbuminémií, což určuje i inverze v poměru albumin/globulin. Hyperglobulinémie je výsledkem zvýšení frakcí  $\alpha$  a  $\beta$  doprovázeného výrazným zvýšením  $\gamma$ -globulinů, které určují hypergamaglobulinemii. Snížení hladiny albuminu je částečně způsobeno vylučováním ledvinami v důsledku glomerulárního poškození vzniklého v průběhu onemocnění a kvůli nízké produkce jater v případech jaterního selhání (Ribeiro et al. 2018).

Leishmanióza psů je často charakterizována zvýšením celkových sérových bílkovin (hyperproteinémií), azotémií, hypergamaglobulinémií a hypoalbuminémií při selhání ledvin anebo jater (Paltrinieri et al. 2016). Ribeiro et al. 2018 uznává, že poškození ledvin spojené s tímto onemocněním je téměř nevyhnutelné, což posiluje skutečnost, že tyto parametry jsou dobrými ukazateli pro diagnostiku a terapeutické monitorování (Ribeiro et al. 2018). Onemocnění ledvin se může projevit jako mírná proteinurie až nefrotický syndrom nebo chronické selhání ledvin, při kterém dochází ke glomerulonefritidě obvykle spojené s ukládáním imunitních komplexů v ledvinách. Aktivita jaterních enzymů je obecně v rámci referenčních hodnot pro psy, ale může být zvýšená. Biochemické nálezy u infikovaných psů mohou zahrnovat změny asparátaminotransferázy, alaninaminotransferázy a alkalické fosfatázy (Heidarpour et al. 2012; Paltrinieri et al. 2016).

**Tabulka 2:** Výsledky základních laboratorních testů odpovídajících diagnóze leishmaniózy u psů (Martinez-Subiela et al. 2002; Bonfanti et al. 2004; Rosypal et al. 2005a; LeishVet 2018).

Laboratorní test	Nálezy odpovídající leishmanióze
CBC/hemostáza	Mírná až středě závažná neregenerativní anémie
	Leukocytóza nebo leukopenie: lymfopenie, neutrofilie, neutropenie
	Trombocytopatie
	Trombocytopenie
	Snížená sekundární hemostáza a fibrinolýza
Biochemický profil séra s elektroforézou bílkovin	Hyperproteinémie
	Hyperglobulinémie
	Hypoalbuminémie
	Snížení poměru albumin:globulin
	Azotemie ledvin (vysoké sérové koncentrace močoviny a kreatininu)
	Zvýšená aktivita jaterních enzymů
	Proteinurie
Analýza moči	Izostenurie (specifická hmotnost 1,008 až 1,012) nebo málo koncentrovaná moč (<1,030).
	Proteinurie (poměr UP/UC ratio)

### 3.2.2.2 Parazitologická diagnostika

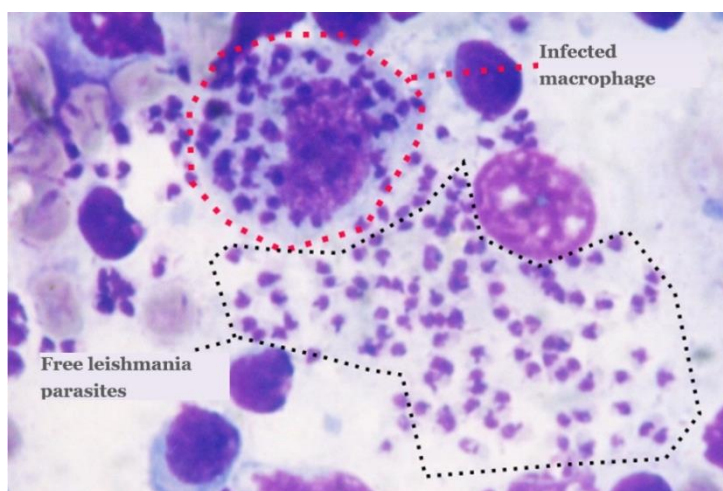
Pro průkaz parazita, se používají parazitické diagnostické metody, jimiž jsou hlavně mikroskopická vyšetření a kultivace, dále cytologie i histologie. Všechny *Leishmania* spp. se vyznačují morfologickou homogenitou, proto tyto testy umožňují identifikovat parazita pouze na úrovni rodu (Gradoni & Gramiccia 2008).

**Mikroskopické vyšetření** amastigotů v obarvených nátěrech kostní dřeně nebo lymfatické uzliny jsou průkaznou diagnózou vyžadující zkušenosti a čas. Po tenkojehelné aspiraci byly zaznamenány zprávy popisující přítomnost amastigotů i v uzlinových útvech s atypickou lokalizací, jako je jazyk, varlata, tlama a nos (Paltrinieri et al. 2016).

**Kultivace in vitro** umožňuje v kultuře *Leishmania* spp. identifikovat životaschopné promastigoty a bičíkatá stádia. Diagnostika kultur se provádí na médiích na bázi krevního agaru. Nevýhodou metody je dlouhá inkubační doba, která činí až 30 dní, a proto se v současné době jako diagnostická metoda obvykle nepoužívá. Kromě toho existuje rozsáhlá variabilita v rychlosti růstu mezi kmeny parazitů. Podkolenní lymfatická uzlina je pro odběr biologického materiálu na kultivaci nejdostupnější a poskytuje 64-100 % pozitivních výsledků u symptomatických psů. Kultivace in vitro je však jediná metoda, která umožňuje izolovat a zachovat původní infekční populaci leishmanií (Gradoni & Gramiccia 2008; Morales-Yuste et al. 2022).

**Cytologické mikroskopické vyšetření** je vysoce specifická, neinvazivní, rychlá, levná a jednoduchá diagnostická metoda. Tato metoda je považována za zlatý standard (Fernandez-Gallego et al. 2020). Cytologické vyšetření umožňuje mikroskopickou detekci amastigotů v makrofázích v postižených tkáních. Odběr z biopsií tenkojehelnou aspirací se provádí z papulární, nodulární a ulcerativní kožní léze (ulcerózní léze lze také hodnotit pomocí otisků) nebo jakékoli biologické tekutiny, které lze získat z postižených míst. Při absenci klinických příznaků by měly být odebrány vzorky z tkání, ve kterých je větší pravděpodobnost detekce parazitů, jako je kostní dřev, lymfatické uzliny, slezina, srst, leukocyty, spojivka a buffycoat z periferní krve v EDTA (Oliva et al. 2006). Provádí se stěrem z bioptického materiálu obarveného Giemsovým barvením a mikroskopickým vyšetřením při zvětšení 600–1000. V přípravcích nátěrů mohou silně infikované buňky prasknout, takže parazité mohou být nalezeni extracelulárně (obr 4) (Gradoni & Gramiccia 2008; Paltrinieri et al. 2010).

**Histologickým vyšetřením** lze detekovat parazity z infikovaných psů v řezech tkání získaných z lézí a připraveným barvením hematoxylinem a eosinem (H&E). Co se týče cytologického průkazu infekce, lze v histologických preparátech detekovat i patologické změny odpovídající leishmanióze u psů (Paltrinieri et al. 2010). Ve srovnání s cytologií je **histologie** pracnější a časově náročnější a identifikace amastigotů může být obtížnější. Na druhou stranu má histologie tu výhodu, že poskytuje další informace o vzoru lézí, což umožňuje rozlišit mezi jedinci, u nichž je parazit spojen s typickými lézemi, a jedinci, u nichž se zdá, že infekce s onemocněním nesouvisí (Paltrinieri et al. 2016).



**Obrázek 4:** Desítky leishmanií uvnitř makrofágů. Buňky praskají a další parazité se uvnitř uvolňují a infikují zdravé buňky (Calier2021).

### 3.2.2.3 Molekulární diagnostika

Senzitivita standardních parazitologických metod nemusí být dostatečně citlivá, proto se doporučují i molekulární testy. Pro diagnostiku anebo identifikaci *Leishmania* spp. jsou dostupné metody založené na polymerázové řetězové reakci (PCR) z různých typů bioptických vzorků (Gradoni & Gramiccia 2008). PCR je v současné době velmi citlivým nástrojem pro diagnostiku leishmaniózy a identifikaci druhů leishmanií. Bylo popsáno mnoho testů PCR, ale výběr nejvhodnější techniky PCR je složitý (Morales-Yuste et al. 2022). PCR má pro diagnostiku onemocnění u psů lepší citlivost a specifickou než cytologické a sérologické testy

(Fernandez-Gallego et al. 2020). Jednou z výhod PCR je rozmanitost vzorků, které lze analyzovat, včetně biopsií fixovaných formalínem, krevních, spojivkových a ústních stěrů i chlupů (Corpas-López et al. 2016) a dalších neinvazivních vzorků. První volbou by měly být odebrány vzorky z míst s nejvyšší průměrným množstvím parazitů, kteří se nachází nejvíce v kostní dřeni, lymfatických uzlinách, slezině, kůži a stěru ze spojivek. Méně citlivými vzorky jsou krev a moč (Corpas-López et al. 2016).

#### 3.2.2.4 Sérologická diagnostika

K dispozici je několik sérologických technik. Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky. **Sérologické** diagnostické metody jsou kvantitativní (IFAT a ELISA) a kvalitativní (rychlometry) (LeishVet 2018). Mezi nejběžněji dostupné sérologické metody se řadí **nepřímý fluorescenční test** na protilátky (IFAT), **enzymatická imunoanalýza**, (ELISA) a rychlé **imunochromatografické proužkové testy**. V testu IFAT (The immunofluorescence antibody test) se sérum psa aplikuje na sklíčko, na kterém jsou fixovány nebo naneseny antigenní látky, které reagují s protilátkami proti leishmaniím. Aplikuje se fluorescenční barvivo, které reaguje s protilátkami na sklíčko a poté se vzorek pozoruje pod fluorescenčním mikroskopem. Výsledek IFAT bývá vyjádřen jako titr, což je poměr zředění séra, při kterém ještě dojde k detekci fluorescencí. Vysoký titr může naznačovat silnou imunitní odpověď a potenciálně aktuální nebo předchozí infekci Leishmanií, výsledek se interpretuje dle hodnoty jako pozitivní či negativní. Vzhledem ke zvýšené citlivosti a specifitě je tento test doporučen Světovou organizací pro zdraví zvířat (OIE) jako referenční test, který se často využívá zejména ve Středomořské pánvi (Gradoni & Gramiccia 2008). Jiné skupiny dávají přednost technice ELISA a tvrdí, že je jednodušší na provedení a interpretaci. **ELISA** (Enzyme-linked immuno sorbent assay) je specifický test v laboratorní diagnostice díky své citlivosti, specifitě a relativní jednoduchosti provedení. Obsahuje mikrotitrovou destičku s malými jamkami, do kterých se aplikují vzorky a reagující látky. ELISA může být provedena jako test detekce protilátek (např. IgG, IgM) nebo antigenu. Principem metody je reakce bezbarvého substrátu na barevný produkt, u kterého lze měřit koncentrace určité látky v roztoku. Intenzita zbarvení koreluje s koncentrací detekovaného antigenu nebo protilátky. (Gradoni & Gramiccia 2008). K dispozici je několik komerčních sad rychlých imunochromatografických proužkových testů a každá sada se může lišit použitým antigenem a činidly. Jejich snadno použitelné formáty jsou vhodné pro klinické použití, avšak diagnostický výkon je obvykle nižší než u IFAT, přičemž hlavním problémem je výskyt falešně negativních výsledků a chybějící titrace protilátek u pozitivních výsledků. Pokud klinické podezření na leishmánízu navzdory pochybným výsledkům přetrvává, je nutné sérologii opakovat citlivějšími metodami (Mettler et al. 2005). Ve studii Coelho & Christodoulides 2023 byly v sérologické diagnostice zjištěny ze séra psů falešně pozitivní výsledky na *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* a *Toxoplasma gondii* (Coelho & Christodoulides 2023)

#### 3.2.3 Terapie

Imunitní systém hostitele hraje klíčovou roli při vzniku infekce a výsledku terapie. U vnímavých zvířat dochází k narušení buněčné imunity a vysoké produkci nechráněných



protilátek, které jsou škodlivé a přispívají k rozvoji některých klinických příznaků. U rezistentních jedinců je účinná imunitní odpověď zprostředkovaná buňkami, schopna infekci ohraničit a eliminovat a zabránit tak rozvoji klinického onemocnění. Typ imunitní odpovědi závisí také na počtu parazitů přítomných v těle a předpokládá se, že léčba vedoucí ke snížení zátěže parazity je schopna posunout imunitní systém směrem k účinnější odpovědi zprostředkované buňkami. Dosud však nebylo prokázáno, že by terapie byla schopna zcela eliminovat parazity z infikovaných organismů, takže u vnímavých zvířat, i když je dosaženo dočasné klinické remise, lze očekávat relaps několik týdnů až let po vysazení léku. Protože jsou recidivy časté, postižená zvířata by měla být sledována po dobu několika měsíců až let, než budou prohlášena za trvale vyléčená. Délka léčby závisí na závažnosti onemocnění, individuální toleranci léků a klinické odpovědi na léčbu. (Baneth & Shaw 2002; Noli & Auxilia 2005). Nejvíce používané léky k léčbě leishmaniózy u psů, včetně dávkování, kombinací a vedlejších účinků, jsou uvedeny v tabulce 3.

*Tabulka 3: Současné léčebné protokoly proti Leishmania u psů (Solano-Gallego et al. 2009; Gramiccia et al. 2013; LeishVet 2018; Coelho & Christodoulides 2023).*

Účinná látka	Terapeutické protokoly	Možné nepříznivé účinky
Alopurinol	10-30 mg/kg p.o., 1-2x denně po dobu alespoň 6-12 měsíců nebo na doživotí	Xantinová urolitiáza
Allopurinol + meglumin antimoniát	10 mg/kg p.o. po dobu 12 měsíců; 100 mg/kg s.c. po dobu 4 týdnů	Urolitiáza a nefrotoxicita
Allopurinol + miltefosin	10-20 mg/kg + 2 mg/kg p.o. od 1 měsíce po 1 rok	Urolitiáza a poruchy trávení
Miltefosin	2 mg/kg p.o. 1x denně po dobu 28 dnů	Poruchy trávení, zvracení, průjem
Meglumin antimoniát	75–100 mg/kg s.c. 1x denně nebo rozděleně 2x denně 40–75 mg/kg s.c. po dobu 4-6 týdnů. Lze zvážit V případě potřeby lze léčbu prodloužit o 2-3 týdny	Nefrotoxicita, bolest a zánět v místě vpichu, poruchy trávení, bolest svalů a ztuhlost kloubů
Stibogluconát sodný	30-50 mg/kg i.v. nebo s.c. po dobu 3-4 týdnů	Bolest a zánět v místě vpichu, poruchy trávení, bolest svalů a ztuhlost kloubů
Domperidona C	0,5 mg/kg p.o. po dobu 1 měsíce p.o. suspense	Galactorea
Amfotericin B deoxycholát	0,5 mg/kg i.v. dvakrát týdně po dobu 2 měsíců	Nefrotoxicita
Paromomycin	15–20 mg/kg, 3 týdny i.m. nebo i.v.	Nefrotoxicita
Pentamidin	3 mg/kg obden 4 injekce, i.m.	Žádné

Pro dlouhodobou léčbu leishmaniózy u psů je ve veterinární medicíně první volbou léčivá látka **allopurinol**, pod obchodními názvy jako Allopurinol®, Alloril®, Milurit®, Purinol®, Zylol® a Lopurin®, Zyloprim® (Solano-Gallego et al. 2011; Manna et al. 2015). Tento lék zasahuje do syntézy proteinů u leishmanií a působí tak inhibičně na jejich růst. Je proto důležité, aby se psům během léčby podávala nízkopurinová strava, neboť užívání léků zabraňuje rozkladu purinu v těle. (Nery et al. 2017). Použití allopurinolu je široce rozšířené, díky jeho nízké toxicitě je velmi účinný u psů s poškozením ledvin. To zvyšuje riziko cystitidy a tvorby močových kamenů. Perorální podávání allopurinolu v dávce 20 mg/kg po dobu 1 týdne za měsíc je vysoce účinné při prevenci relapsu u psů (Zelinka et al. 2016). Allopurinol je obvykle dobře tolerován a jeho jediným vedlejším účinkem je tvorba xantinových krystalů v moči a



možných urolitů. I když se krystaly vytváří často a ve velké míře, obvykle nedochází ke klinicky relevantním potížím nebo nutnosti přerušení terapie. Je tedy vhodné kontrolovat moč zejména v případech dlouhodobé medikace nebo makroskopické změny moči (Torres et al. 2011). I dyž je allopurinol jediným lékem doporučeným WHO pro léčbu leishmaniózy u psů, nedávno byla publikována první zpráva o rezistenci na alopurinol u parazitů *L. infantum* izolovaných ze psů, a to spojená s klinickým návratem onemocnění (Yasur-Landau et al. 2017). Délka léčby allopurinolem závisí na závažnosti onemocnění, klinické a parazitologické odpovědi na léčbu a individuální toleranci tohoto léku. Někteří extrémně citliví psi nikdy nedosáhnou bodu, který by umožnil vysazení allopurinolu, zatímco jiní jsou schopni kontrolovat infekci bez nutnosti extrémně dlouhé léčby (Solano-Gallego et al. 2009). Allopurinol je často kombinován s jinými léky, zejména antimonikami nebo miltefosinem, ale může být použit jako monoterapie u asymptomatických psů i jako následná nebo dokonce jako preventivní léčba (Noli & Auxilia 2005). Podle Coelho a Christodoulides (2023) se jako nejslibnější pro léčbu psů ukázala kombinace allopurinolu s miltefosinem. Ve většině částí světa je meglumin antimoniat nejběžněji používanou léčbou viscerální leishmaniózy a kombinace meglumin antimoniatu a alopurinolu je považována za neúčinnější terapii leishmaniózy u psů (Coelho & Christodoulides 2023).

Dalším lékem používaným k léčbě psů s leishmaniózou je **miltefosin** (Milteforan®), který inhibuje růst promastigotních forem parazita a způsobuje usmrcení amastigotních forem (Fernandez-Gallego et al. 2020). Jeho mechanismus účinku je spojen s vazbou na lipidy a spouštěním apoptózy (Dorlo et al. 2012). Miltefosin je úspěšně používán v monoterapii (Manna et al. 2009) i v kombinaci s alopurinolem (Dias et al. 2020a). Obvykle se používá u psů s poškozením ledvin, protože může snížit proteinurii (Proverbio et al. 2016). U psů byla již také popsána rezistence na tento lék (Gonçalves et al. 2021).

K terapii jsou používány soli pětimocného antimonu jako je **meglumin antimonit** (meglumin antimoniat) (Glucantime®) nebo **stiboglukonát sodný** (Pentostam®, v ČR dostupný). Použití antimonových solí je kontraindikováno u pacientů s myokarditidou, hepatitidou nebo nefritidou. Pětimocná antimonová léčiva byla po mnoho let prvoliniová, ale vzhledem k vysoké odolnosti parazitů v endemických oblastech je jejich použití velmi omezené (Zelinka et al. 2016).

Podpůrná léčba zahrnuje léčbu **domperidonem** (Leishguard®), která může posílit vrozené obranné mechanismy, aktivovat fagocytární buňky a zesílit intracelulární usmrcení parazitů, což může pomoci zabránit leishmanióze a snížit riziko rozvoje klinického onemocnění. Lze ho použít k léčbě i prevenci leishmaniózy. Nebyly hlášeny žádné nežádoucí účinky související s podáváním domperidonu (Sabaté et al. 2014).

K léčbě může být použito ještě několik dalších chemoterapeutických látek, včetně paromomycinu, amfotericinu B, pentamidinu a marbofloxacinu. Velkým problémem je, že tyto léky jsou spojeny s toxickými vedlejšími účinky, vysokou cenou, délkou a trváním léčby, způsobem aplikace (zejména intravenózní infuzí) a rozvojem lékové rezistence parazita (Zelinka et al. 2016). Léčba **paromomycinem** neboli **aminosidinem** byla s alopurinolem pozitivně hodnocena, mechanismus jeho účinku však není jasný (Kasabalis et al. 2020). **Amfotericin B** je bakteriostatické antibiotikum vytvářející póry v buněčné membráně *Leishmania*, které vedou k iontové nerovnováze u parazita. (Roberts et al. 2003). Tato sloučenina není u leishmaniózy u psů široce používána, protože je vyžadováno pečlivé

monitorování ledvin, nutnost intravenózního podání a skutečnost, že její účinnost není zcela jasná (Hernández et al. 2015). Lék **marbofloxacin** se zdá být při léčbě užitečný, zejména v případech s chronickým onemocněním ledvin (Pineda et al. 2017).

U velké většiny psů dochází ke klinickému zlepšení během prvního měsíce terapie; u jiných však může být zapotřebí delší doba, než je patrné zlepšení (de Freitas et al. 2006; Manna et al. 2008). I když je parazitologického vyléčení dosaženo jen zřídka a po terapii často dochází ke klinickým recidivám leishmaniózy, je nutné vzít v úvahu, že dostupné léčebné protokoly mohou kromě snížení výskytu parazita a nakažlivosti vůči flebotomům, podpořit klinické vyléčení, prodloužit očekávanou délku života a zlepšit kvalitu života (Gharbi et al. 2015). Klinická odpověď na léčbu nemocných psů se může lišit od špatné po dobrou v závislosti na jejich celkovém počátečním klinicko-patologickém stavu a jejich specifické odpovědi na terapii. Očekává se, že psi s renální insuficiencí budou mít nižší míru zotavení ve srovnání se psy, kteří nemají poškozené ledviny nebo pouze s mírnou proteinurií. Je proto vhodné posoudit potenciální schopnosti psa reagovat na terapii kompletním sérologickým, hematologickým a biochemickým profilem a analýzou moči, aby se vyhodnotil především stav kostní dřeně, ledvin a jater (Noli & Auxilia 2005; Solano-Gallego et al. 2011). I když terapie často vede ke klinickému vyléčení, psi mohou nadále přechovávat parazita a být infekční pro flebotomy, ale v menší míře než před léčbou. Z důvodů ochrany veřejného zdraví a pro prevenci reinfekce je u léčených psů nezbytné neustálé používání permetrinových spot-on anebo flumetrinových nebo deltamethrinových obojků a nepřetržitě veterinární sledování (Manna et al. 2008; Ribeiro et al. 2008). Monitorování léčby se doporučuje po prvním měsíci, včetně úplného krevního testu se zaměřením na biomarkery poškození ledvin, a poté každé 3–4 měsíce až do úplného uzdravení. Po uzdravení by měl být stav psa kontrolován každých 6–12 měsíců, aby bylo možné odhalit a zabránit recidivám (Oliva et al. 2010; Martínez et al. 2011; Roura et al. 2013).

### 3.2.4 Prevence

Vzhledem k tomu, že kousnutí flebotomem je nejdůležitější cestou přenosu leishmaniózy u psů, měla by být opatření pro kontrolu infekce zaměřena především na zabránění kontaktu s hmyzím přenašečem. Prevence leishmaniózy u psů zahrnuje široké spektrum opatření, která mají za cíl minimalizovat expozici flebotomů na psy, jakožto jejich vektorů leishmaniózy, a snížit tak riziko nákazy (Solano-Gallego et al. 2009; Maroli et al. 2010; Ribeiro et al. 2018). Mezi několika sloučeninami, které vykazují repeletní a insekticidní účinek na flebotomy, jsou syntetické pyretroidy nejpoužívanějšími produkty. V přípravku mohou být obsaženy spolu v kombinaci s jinými insekticidy, které vykazují synergický účinek na hmyz. Obsahují látky deltamethrin, permethrin, filpronil nebo flumethrin. Účinné repeletní látky působí proti několika druhům flebotomů vyskytujících se v Evropě, Asii a Jižní Americe (Manzillo et al. 2006). Produkty se rozlišují podle různých způsobů aplikace na zvířata. Zahrnují ochranné obojky, spot-on a spreje (Gramiccia 2011). Při výběru přípravku je třeba pečlivě zvážit různá počáteční období ochranné aktivity, intervaly se do úplné ochrany mohou lišit od okamžité po 1 týden v závislosti na produktu (Maroli et al. 2010). Lokální aplikace spot-on a sprejových přípravků má kratší dobu účinku než obojky (Miró et al. 2007; Otranto et al. 2007; Ferroglio et al. 2008). Vzhledem ke kratší době trvání ochranné aktivity u přípravků spot-on a sprejů, by majitelé měli pamatovat na časté aplikace a dodržovat je, zatímco obojky

s pomalým uvolňováním není nutné vyměňovat více než dvakrát ročně v prostředích, ve kterých jsou vektory *Leishmania* aktivní po celou dobu roku nebo jednou ročně v mírných oblastech, kde se během chladných měsíců nevyskytují žádní dospělí jedinci flebotomů (Maroli et al. 2010). Veterinárním lékařům a majitelům psů se doporučuje, aby pečlivě zkontrolovali doporučení na etiketě přípravku a řídili se pokyny výrobce pro správnou aplikaci a četnost opakování aplikace (Solano-Gallego et al. 2009).

Důležitou roli hraje i kontrola prostředí, kde psi žijí, a minimalizace faktorů, které mohou přispívat k výskytu flebotomů. Podstatná je také spolupráce s veterinárním lékařem při výběru a používání vhodných preventivních opatření (Solano-Gallego et al. 2009). Na základě posouzení rizika nebo při pobytu psa v endemických oblastech by měl být pro optimální prevenci infekce a rozvoje klinického onemocnění zvažován multimodální přístup kombinující použití repelentů a vakcinace. Repelenty snižují riziko infekce, ale nezabraňují vzniku klinických příznaků, pokud byl pes infikován. Vakcinace snižuje riziko progresu onemocnění a pravděpodobnost rozvoje klinických příznaků, ale infekci nezabrání (LeishVet 2018). Všichni zdraví psi žijící nebo navštěvující oblasti, kde je leishmanióza endemická, by měli být chráněni před flebotomovým kousnutím, aby se zabránilo infekcím leishmanií (Maroli et al. 2010). Vedlejší účinky se u psů vyskytují jen vzácně, a především jen u menších plemen psů s tenkou jemnou kůží. Po aplikaci se u nich mohou vyskytnout dočasné kožní reakce jako svědění a erytém v místě aplikace, které ale obvykle sami vymizí (Maroli et al. 2001; ÚSKVBL 2021). Správná prevence je klíčová nejen pro ochranu zdraví psů, ale také pro minimalizaci rizika šíření infekce u lidí (Manzillo et al. 2006). Současná profylaktická opatření používaná pro prevenci a kontrolu leishmaniózy jsou shrnuta v tabulce 4.

*Tabulka 4: Komečně dostupné lokální insekticidy v Evropě (Ribeiro et al. 2018).*

Obchodní název/licence	Forma (aplikace)	Farmaceutické sloučeniny	Doba do nástupu ochranné aktivity	dobu trvání ochrany	Účinnost v terénních studiích (reference)
<b>Activyl Plus</b> /MSD	spot-on	Permethrin + indoxarb	24-48 hodin	3-4 týdny	
<b>Advantix®</b> /Bayer	spot-on	50 % permethrin + 10 % imidacloprid	24-48 hodin	3-4 týdny	88.9–90.4 % (Otranto et al. 2007)
<b>Effitix®</b> nebo <b>Fiprotix®</b> nebo <b>Fipratix®</b> /Virbac	spot-on	6.1 % fipronil + 54.5 % permethrin	24-48 hodin	4 týdny	
<b>Exspot®</b> /MSD	spot-on	65 % permethrin	24-48 hodin	2-4 týdny	84 % (Ferroglio et al. 2008)
<b>Frontect®</b> nebo <b>Frontline Tri-Act®</b> /Merial	spot-on	6.76 % fipronil + 50.48 % permethrin	24-48 hodin	3-4 týdny	100 % (Papadopoulos et al. 2017)
<b>Scalibor®</b> /MSD	obojek	4 % deltamethrin + trifenylfosfát	1 týden	4-6 měsíce	50–86 %; 61.8 % (Maroli et al. 2001; Brianti et al. 2016)
<b>Foresto (Seresto®)</b> /Bayer nebo Elanco	obojek	10 % imidacloprid + 4.5 % flumethrin		8 měsíců	88.3 % (Brianti et al. 2016)

<b>Perfikan®/Clément Thékan</b>	spot-on	6.1 % fipronil + 54.5 % permethrin		4 týdny	
<b>Caniguard Line On®/Beaphar</b>	spot-on	40 % permethrin		5 týdnů	
<b>Vectra 3D®/Ceva</b>	spot-on	4.95 % dinotefuran + 36.08 % permethrin + 0.44 % pyriproxifen	24-48 hodin	4 týdny	
<b>Duowin/Virbac</b>	sprej	2 % permethrin a 0,2 % pyriproxifen	Ihned	3-4 týdny	

### 3.2.4.1 Obojky

V současné době jsou k dispozici obojky s různými účinnými látkami. Vzhledem k pomalému uvolňování insekticidu ze psích obojků je plné ochranné aktivity dosaženo přibližně 1-2 týdny po aplikaci. Repelentní účinky obojků jsou dlouhodobé několik měsíců. Použití obojků na bázi **pyretroidů** prokázalo velkou účinnost při tlumení leishmaniózy u psů. Ochrana u obojků Scalibor impregnované **deltamethrinem** trvá 5-6 měsíců (Solano-Gallego et al. 2009; LeishVet 2018). Obojky Foresto (Seresto) obsahující **flumethrin a imidakloprid** a snižují riziko po dobu až 8 měsíců (Brianti et al. 2016; LeishVet 2018).



**Obrázek 5:** a) Vyjměte obojek Foresto (Seresto)<sup>TM</sup> z ochranného pouzdra a rozbalte jej, aby na vnitřním povrchu obojku nezůstaly žádné plastové konektory. b) Nasad'te psovi obojek na krk. Volný konec obojku prostrčte dvěma smyčkami. c) Utahujte tak dlouho, dokud se mezi obojek a krk psa nevejdou dva prsty. d) Odstřihněte přebytečnou délku obojku a ponechte asi 2 cm volného konce za druhou smyčkou. U štěňat ponechte další délku, abyste mohli obojek upravit, až porostou (Elanco 2022).

### 3.2.4.2 Spot-on

Přípravky ve formě spot-on jsou pipety, které se podávají psovi po odhrnutí srsti za krkem na holou kůži. Ošetření **permetrinovým** roztokem typu spot-on většinou v kombinaci s imidaklopridem nebo fipronilem poskytují repelentní účinek proti flebotomům většinou po dobu 3-4 týdnů (Molina et al. 2006; LeishVet 2018). Permetrinový roztok zabraňuje sání krve flebotomi, konkrétně u *Phlebotomus perniciosus*. Přípravek Advantix zabraňuje sání navíc i u *Phlebotomus papatasi* (ÚSKVBL 2021). Pro zachování ochrany se poté musí pokračovat v opakování aplikace po celou sezónu flebotomů. V případě psů cestujících do endemických oblastí je proto nutné přípravek aplikovat minimálně 2 dny před cestou nebo výstavou, aby se insekticid rozšířil po celém povrchu těla, neboť plné ochranné aktivity spot-on formulací je dosaženo přibližně 24 až 48 hodin po aplikaci (Miró et al. 2007; Solano-Gallego et al. 2009; LeishVet 2018). Otrava přípravkem po nechtěném příjmu u psů je nepravděpodobná, přesto je ale nežádoucí, aby si pes aplikované místo olizoval. Přípravek zůstává účinný i při namočení

zvířete, ale po dobu 12 hodin po aplikaci by mělo být psům zamezeno v plavání (ÚSKVBL 2022).



**Obrázek 6:** Aplikace pipety (ÚSKVBL 2021). 1) Pipetu vyjměte z obalu. Aplikátor držte ve vzpřímené pozici, po zatočení vytáhne uzávěr. 2) Opačný konec uzávěru se nasadte na pipetu a otočením se poruší těsnění pipety. Sundejte uzávěr. 3) Klidně stojícímu psovi rozhrňte srst v oblasti mezi lopatkami, až je viditelná kůže. Ústí pipety se přiložte přímo na kůži a několikerým pevným stisknutím aplikujte celý obsah pipety přímo na kůži. Aplikace přípravku proveďte pouze na zdravou kůži (ÚSKVBL 2021).

#### 3.2.4.2.1 Spreje

Ošetření sprejovým přípravkem **permethrinu** a **pyriproxifenu** poskytuje repeletní účinek s okamžitou insekticidní aktivitou proti flebotomům po dobu 3-4 týdnů (LeishVet 2018). Jejich účinnost je po aplikaci okamžitá, ale rozhodující je správná aplikace, aby nedošlo k vytvoření nechráněných zón na psovi, a tím ke ztrátě ochrany. Jejich reziduální účinek je nižší než u jiných přípravků a k dosažení ochrany je zapotřebí opakování aplikace s odstupem 1 až 2 týdnů. Studie Molina et al. (2006) prokázala, že sprej s permethrinem a pyriproxifenem má 71,4 % repeletní účinek proti kousnutí flebotomi po 21 dnech, avšak jeho insekticidní účinek byl pouze 7,2 % (Molina et al. 2006). Psi tyto spreje snášejí dobře a bez hlášených nežádoucích reakcí na účinné látky. Použití insekticidního spreje může mít zvláštní význam v případech krátkodobé expozice nebo k okamžité ochraně psa v případě přechodné ztráty ochrany u jiných přípravků (Ribeiro et al. 2018).

Některé přírodní sloučeniny jsou známé svým repeletním účinkem proti hmyzu. Jejich aktivita proti flebotomům však není obecně známa. Tyto přípravky nebyly na psech testovány a předpokládá se, že doba repelence je velmi omezená. Neemový olej nebo levandulové pleťové vody testované proti vektorům u lidí vykazovaly ochranu pouze po dobu 7 hodin. Testován byl také extrakt z citronové trávy a geraniol, jejichž repeletní účinnost proti kousnutí flebotomem byla velmi slabá (Ribeiro et al. 2018).

#### 3.2.4.3 Expozice

Jelikož je kousnutí flebotomem nejdůležitější cestou přenosu leishmaniózy, další strategie prevence jsou proto založeny na omezení a zabránění kontaktu mezi hostitelem a vektorem. Jedním z preventivních opatření mohou být fyzické bariéry, které jsou vhodné

zejména u mladých štěňat, kde je dermální aplikace syntetických pyrethroidů kontraindikována, nebo jsou-li pozorovány nežádoucí účinky. Jako fyzické bariéry lze například použít jemné sítě v oknech a boudách s chráněnými vchody a sítěmi s malými oky velkými 2 až 3 mm (Maroli et al. 2010; Ribeiro et al. 2018). Dalšími užitečnými preventivními opatřeními proti pokousání flebotomy jsou: držení psa uvnitř během sezóny flebotomů od soumraku do svítání; omezení mikrobiotopů (mikrohabitatů) příznivých pro flebotomy, jako jsou hromady dřeva a kamení v blízkosti domu nebo v místech, kde pes tráví čas a použití insekticidního ošetření prostředí, kde pes přebývá (Solano-Gallego et al. 2009). Kvůli možnosti selhání těchto opatření musí být pes stále schopen reagovat na infekční výzvu způsobenou kousnutím infikovaných flebotomů, přednostně adaptivní imunitní reakcí, která se dříve vyvinula prostřednictvím vakcinace, nebo pomocí chemoterapeutik, která mohou posílit imunitní systém v boji proti infekci (Maroli et al. 2010; Ribeiro et al. 2018). V případě potenciální expozice vektorů leishmanií je doporučováno vyšetření na leishmaniózu (Paltrinieri et al. 2010).

### 3.2.5 Vakcinace

Podle WHO (WHO 2020) je vakcinace považována za jednu z nejlepších a nejúčinnějších metod kontroly leishmaniózy u psů a nepřímo i u lidí. Vakcíny nezabraňují infekci, ale spíše progresi onemocnění, kontrolují šíření parazita v těle, zamezují přenosu leishmanií a snižují riziko vývoje klinických příznaků a jejich potenciálně závažných účinků. Vakcíny lze aplikovat pouze zdravým psům (Gradoni 2015; LeishVet 2018). Cílem vakcinace proti leishmaniím je vyvolat trvalou a silnou buněčně zprostředkovanou specifickou imunitu, která by kontrolovala progresi infekce a vyvinout u psa větší odolnost vůči nemoci (Solano-Gallego et al. 2001). Vakcíny působí tak, že stimulují reakci imunitního systému na leishmanie. Imunitní systém si tak vytváří paměť. Díky této imunologické paměti si tělo leishmanie zapamatuje a dokáže se proti nim chránit a zabránit vzniku leishmaniózy. Tato paměť není pevná, proto je nutné pro zachování ochrany dávku pokaždé opakovat (EMA 2016a; ECDC 2022).

Většina vakcín obsahuje oslabené nebo inaktivované (usmrcené) formy leishmanií (nebo jejich malou část), které nemohou způsobit onemocnění. Jedná se o takzvané antigeny. Po podání vakcíny imunitní systém očkovaného psa vyhodnotí antigen jako cizorodý. Tím se aktivují imunitní buňky a vytvoří se specifická imunitní odpověď, aby hubily leishmanie a vytvářely proti nim protilátky. Aktivují se také imunitní buňky (T-buňky a B-buňky) v krvi, v kostní dřeni a v celém těle. Pokud očkováný pes přijde později do kontaktu se skutečným prvokem, její imunitní systém si na ně vzpomene a bude schopen vytvářet odpovídající protilátky a rychle aktivovat správné imunitní buňky, aby leishmanie usmrtily, čímž daného psa chrání před onemocněním. Různé vakcíny navozují různou úroveň ochrany (ECDC 2022). Některé vakcíny obsahují také adjuvans, což jsou látky, které se přidávají do vakcíny za účelem zvýšení jejího účinku. Adjuvans jsou ale spojeny i se vznikem nežádoucích reakcí. Ze všech těchto důvodů se nedoporučuje očkování psů mladších čtyř měsíců. Tato zvířata si nemohou vyvinout účinnou imunitní reakci. Vedlejšími účinky může být svědění v místě očkování nebo otok. Před podáním vakcíny se doporučuje ověřit infekci leishmaniemi pomocí vhodného diagnostického testu (EMAb 2016; LeishVet 2018; Velez et al. 2020).



Očkování nechrání pouze očkované psy, ale snížením rizika mezi psy se také nepřímo chrání neočkovaní psi nebo štěňata, která jsou na očkování příliš malá, nebo psi s oslabeným imunitním systémem (EMAb 2016; ECDC 2022). Jelikož samotná imunizace v prevenci infekce plně nezabrání, všechny komerčně dostupné vakcíny proti leishmanióze u psů proto doporučují současnou aplikaci lokálních insekticidů proti flebotomům. Kromě toho všichni infikovaní psi stále představují potenciální zdroje parazita pro ostatní psy a lidi. Imunizace je důležitá nejen proto, že jiná profylaktická opatření nedokážou zabránit všem infekcím, ale také kvůli rostoucímu počtu zpráv o nevektoriálním přenosu parazitů rodu *Leishmania* (Fernandes et al. 2014).

Od roku 2004 bylo licencováno pět komerčně dostupných inaktivovaných vakcín proti leishmanióze psů, dvě v Brazílii (Leishmune®, jejíž licence na výrobu a uvádění na trh byla v roce 2014 zrušena, a Leish-Tec®) a tři v Evropě (CaniLeish®, LetiFend®, NeoLeish®) (tab. 5). Účinná vakcína dostupná celosvětově ale stále pro psy chybí. I po několika letech uvádění vakcín na trh přetrvávají pochybnosti o účinnosti a efektivitě vakcín, možné infekčnosti vakcinovaných a infikovaných zvířat nebo vlivu interferenci vakcínou indukovaných protilátek při sérologické diagnostice *L. infantum* (Velez & Gállego 2020; WOAHA 2021).

Tabulka 5: Shrnutí vakcín proti leishmanióze psů (Coelho & Christodoulides 2023).

Obchodní název/ licence	Antigeny	Úroveň ochrany (reference)	Minimální věk psa	Primovakcinace	Revakcinace
CaniLeish®	<i>L. infantum</i>	92,7 % (Veleze et al. 2020)	6 měsíců	3 dávky s odstupem 3 týdnů	Každoroční
LeishTech®	<i>L. donovani</i>	96,4 % (Regina-Silva et al. 2016)	4 měsíce	3 dávky s odstupem 3 týdnů	Každoroční
Leishmune®	<i>L. donovani</i>	98,0 % (Borja-Cabrera et al. 2008)	4 měsíce	3 dávky s odstupem 3 týdnů	Každoroční
LetiFend®	<i>L. infantum</i>	98 % (Cotrina et al. 2018)	6 měsíců	1 dávka	každoroční
NeoLeish®	<i>L. infantum</i>		6 měsíců	2 dávky s odstupem 2 týdnů	Každých 6 měsíců

**Leishmune®** (původně Fort Dodge Animal Health a později Zoetis, Brazílie) byla první licencovaná vakcína proti leishmanióze u psů, registrovaná v Brazílii v roce 2004-2013. Vakcína se skládá z *L. donovani* a saponinového adjuvans (Borja-Cabrera et al. 2002; Gradoni 2015; Jain & Jain 2015). Vakcinační protokol sestával ze tří dávek vakcíny podávaných subkutánně každých 21 dní psům starším čtyř měsíců nebo starším, po nichž následovala každoroční posilovací revakcinace. Terénní studie prokázaly 98,0 % ochrany proti onemocnění po přirozené infekci a také dobrou imunoterapeutickou účinnost při použití u nemocných psů (Borja-Cabrera et al. 2008; Palatnik-de-Sousa et al. 2008). Licence na výrobu a uvádění vakcíny Leishmune® na trh byla v roce 2014 brazilským ministerstvem zemědělství odmítnuta z důvodu nedostatku důkazů o účinnosti ve studiích (MAPA 2014).

V Brazílii byla v roce 2007 také vyvinuta druhá vakcína **LeishTec®** (Hertape-Calier, Ceva Laboratórios Ltda., Brazílie), která obsahuje rekombinantní antigen z amastigotů *L. donovani* ve spojení se saponinovým adjuvans. Vakcína prokázala 96,4 % úroveň ochrany (Regina-Silva et al. 2016). Vakcína se podává psům starším čtyř měsíců a primární vakcinační cyklus se skládá ze tří dávek podávaných subkutánně v 21denních intervalech, po nichž následuje každoroční posilovací dávka. Bylo prokázáno, že vyvolává ochrannou imunitu u psů (Fernandes et al. 2014; Regina-Silva et al. 2016; Ceva 2019). Kromě toho vakcína nevedla k sérokonverzi očkovaných zvířat, což je důležitý požadavek na vakcíny proti leishmáníóze, neboť orgány veřejného zdraví v Brazílii doporučují eutanazii séropozitivních psů (Grimaldi et al. 2017).

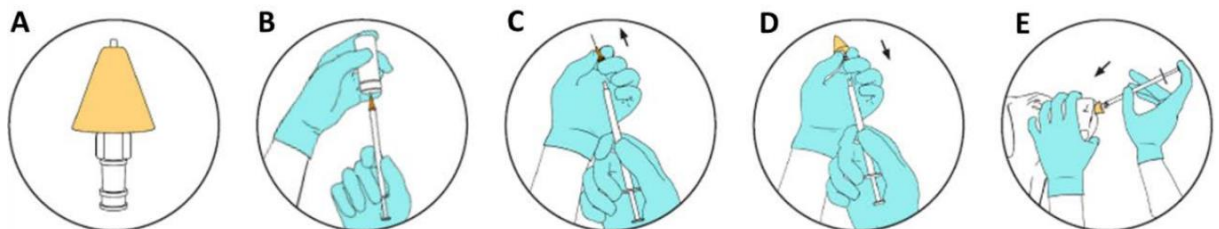
V roce 2011 byla v Evropě uvedena na trh třetí vakcína **CaniLeish®** (Virbac Animal Health, Francie), založená na purifikovaných sekretovaných antigenech *L. infantum*. Purifikované proteiny *L. infantum* se saponinem významně snižují riziko přechodu do aktivní infekce nebo zjevného onemocnění a poskytují úroveň ochrany z 92,7 %. Riziko vzniku aktivního onemocnění je u očkovaných psů sníženo 3,6krát (EMA 2011a; Moreno et al. 2012; Oliva et al. 2014; Velez et al. 2020). Psům se podávají tři injekce pod kůži s odstupem tří týdnů. První injekci lze podat psům od šesti měsíců věku, druhou injekci o tři týdny později a třetí po dalších třech týdnech. Ochranná imunita nastupuje 4 týdny po primovakcinaci. Ochrany je dosaženo jeden měsíc po třetí injekci, následuje každoroční posilovací dávka, aby byl zachován účinek vakcíny. Podle farmakovigilančních údajů, které společnost Virbac oznámila v říjnu 2015, bylo během prvních 3,5 let uvádění na trh v Evropském hospodářském prostoru, Švýcarsku a Tunisku prodáno více než 1,8 milionu dávek vakcíny CaniLeish® (Velez et al. 2020; LeishVet 2018). Po použití vakcíny však nelze odlišit očkovaná zvířata od infikovaných (Oliva et al. 2014). Podle Zelinky et al. (2016) byla tato vakcína v roce 2011 v České republice registrována, na trhu však přesto dostupná nebyla (Zelinka et al. 2016). Podle European Medicines Agency (2011) byla registrace tohoto výrobku později stažena (EMA 2011b).

Čtvrtá vakcína **LetiFend®** (Laboratories LETI, Španělsko) byla v Evropě licencována v únoru 2016. Jedná se o rekombinantní vakcínu obsahující chimérický protein (protein Q) tvořený pěti antigenními fragmenty čtyř různých proteinů *L. infantum*, ke kterému nebylo přidáno žádné adjuvans (EMA 2016a; Cotrina et al. 2018). Vakcína se podává psům od 6 měsíců věku jako jednorázová injekce pod kůži. Posilovací dávka injekce by měla být podávána každý rok, aby se udržel účinek vakcíny. Ochrana začíná po čtyřech týdnech po očkování (EMA 2016b). Pes očkovaný rekombinantním proteinem Q z *L. infantum* má pětikrát menší riziko vzniku klinického onemocnění než pes neočkovaný (EMA 2016a; LeishVet 2018). Podle výsledků terénní studie Cotrina et al. (2018) vykazovala vakcína LetiFend® 98 % úroveň ochrany v prevenci leishmáníózy u vakcinovaných psů. Po podání vakcíny nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky (Cotrina et al. 2018). V České republice je registrovaná od roku 2016 (EMA 2016b).

V roce 2022 byla Evropskou lékovou agenturou (EMA) proti leishmáníóze u psů udělena registrace nové vysoce účinné vakcíně **NeoLeish** (CZ Veterinaria). Pátá vakcína Neoleish obsahuje rekombinantní DNA plazmid, aktivně imunizuje negativní psy a snižuje riziko vzniku



aktivní infekce nebo klinických příznaků onemocnění po expozici *Leishmania infantum* (EMA 2023). Tato vakcína snižuje přítomnost parazita o více než 90 % (CIB Margarita Salas 2023). Účinnost vakcíny byla prokázána v terénní studii, v níž byli psi přirozeně vystaveni *Leishmania infantum* v endemických oblastech po dobu dvou let. Získané údaje prokázaly, že u očkovaného psa je přibližně 2krát menší riziko vzniku aktivní infekce, 3krát menší riziko vzniku klinického onemocnění a 3,5krát menší riziko výskytu detekovatelných parazitů v krvi než u neočkovaných psů. V laboratorních studiích vakcína snižovala závažnost onemocnění včetně klinických příznaků a množství výskytu parazitů v kostní dřeni, slezině a lymfatických uzlinách (ÚSKVBL 2023). Jedna dávka vakcíny (1 ml) se aplikuje nasálně, do každé nozdry po 0,5 ml (Obr. 7). První dávka vakcinace se podává psům v 6 měsících věku, druhá dávka se aplikuje o 2 týdny později. Psi se revakcinují každých 6 měsíců po ukončení primární vakcinace. Imunita získaná z vakcíny nastupuje u psa 58 dnů po primovakcinaci a trvá 6 měsíců (CIB Margarita Salas 2023). Jednou z výhod vakcíny je, že ke konzervaci nevyžaduje zmrazení (CIB Margarita Salas 2023). V České republice je registrovaná od roku 2022 (ÚSKVBL 2023).



**Obrázek 7:** A) Použijte komerční prostředek vhodný k intranazálnímu podání veterinárních léčivých přípravků přizpůsobený na injekční stříkačku o objemu 1 ml. B) Natáhněte správný objem vakcíny (1 ml) jehlou připojenou k injekční stříkačce. C) Odstraňte jehlu. D) Připojte komerční intranazální prostředek. E) Volnou rukou držte čenich psa vzhůru a hrot prostředku umístěte pevně proti nozdře. Miřte mírně nahoru a vně, abyste zajistili, že do čenichu podáte celou dávku. Pak svižně stlačte píst injekční stříkačky, čímž podáte polovinu léku do nozdry (0,5 ml). Prostředek přemístěte do druhé nozdry a opakujte aplikaci. Podejte zbývající objem (0,5 ml) (CIB Margarita Salas 2023).

## 4 Případová studie

### 4.1 Popis pacienta

Jméno: Lex

Plemeno: hovawart

Datum narození: 4.5.2019

Věk: 3 roky

Pohlaví: pes, nekastrovaný

Hmotnost: 41,3 kg (7.9.2022)

Čip: ano

### 4.2 VETERINÁRNÍ PRACOVISTĚ 1

#### 4.2.1 Anamnéza

Majitelé si v roce 2019 pořídili od chovatelky zdravé štěně staré dva měsíce. Ze zdravotních problémů se mu v minulosti operovala pouze tříselná kýla, když byl štěně.

Prvním klinickým projevem bylo krvácení z nosu v červenci 2022. Majitelé tento problém řešili s veterinárním lékařem telefonicky, ten jim poradil nos ledovat a nepřikládala se tomu zásadní pozornost. Krev z nosu mu tekla celkem 3x s odstupem dní až pár týdnů, majitelé ve všech případech nos ledovali.

V září 2022, po zhruba dvou měsících od prvního krvácení z nosu, si majitelé všimli, že má Lex na pyscích 2 boule, na každé straně jednu. Ihned navštívili veterinárního lékaře.

#### 4.2.2 Klinické vyšetření

Při návštěvě veterinárního lékaře byl Lex aktivní a měl chuť k jídlu. Kondice i srst psa byla celkově dobrá, výživný stav i váha byla stabilní. Pes měl růžové sliznice, CRT do 2 sekund. U Lexe se v bukální straně sliznice v oblasti vývodu papily ductus parotideus (vývod příušní slinné žlázy) nacházelo tuhoelastické bilaterální zvětšení. Při pohmatu bylo nebolestivé. Z útvaru vytékala sérohemoragická tekutina. Dutina ústní byla jinak v pořádku. Pes měl palpačně zvětšené také preskapulární mízní uzliny, levá byla více hmatatelná. Mírně zvětšené byly i popliteální mízní uzliny. U Lexe se vyskytovala bilaterální konjunktivitida.

Při další návštěvě veterinárního lékaře byly slinné žlázy oproti minulému vyšetření mírně zvětšené, ale normální teploty, vyskytovala se hypersalivace a dle majitelky navíc rhinitis. Pes také začal více línat a víc jíst, majitelka změnila před začátkem problému granule. Majitelka také později popisovala odřekování, jak kdyby měl plný nos, bilaterálně se zhoršila epifora, hypersalivace přetrvávala.

Kýchal hlavně v klidu, již delší dobu si drbal tlamu a ucho na levé straně, více frkal, působil, že měl plný nos a hvízdal. Po delší době v klidu po procházce začal kulhat na levou zadní končetinu, objevila se na ní stejná boule jako na pyscích. Pes nechtěl později ani spát, nastalo náhlé rychlé zhoršení. Majitelka ledovala metatarsus na noze a stav se zlepšil.

### 4.2.3 Laboratorní a jiná vyšetření

Při odběru aspirací biopsie tenkou jehlou (FNAB) z bukální sliznice ductus parotideus byl kvalitní buněčný preparát, velké množství vícejaderných buněk, viditelná granula kolem jader a minimální množství cytoplazmy. Biopsie z preskapulárních mízních uzlin ukázala normální buňky, vícejaderné v normálním počtu, tedy pravděpodobně bez patologie.

Během cytologického vyšetření útvarů z bukální sliznice byla specialistou popsána malá kontaminace krví, vysoká buněčnost, místy detritus a masivně volná jádra. Asi 70 % buněk tvořily malé až střední lymfocyty, asi 20 % lymfoblasty, různé morfologie, asi 10 % plazmocytů, ojediněle neutrofilů. Cytologie preskapulární uzliny obsahovala malou kontaminaci krví, střední buněčnost, hojně detritus a hojně volná jádra. Asi 70 % buněk tvořily malé až střední lymfocyty, asi 20 % plazmocytů, asi 10 % lymfoblasty různé morfologie, ojediněle neutrofilů.

Následující den byl veterinárním lékařem proveden rentgen hlavy a rhinoskopie. Rentgenovala se dutina nosní, obě strany maxilly zubního oblouku a hlavy v neutrální laterolaterální projekci, intraorálně venterodorzální projekci, šikmé pravé laterolaterální a šikmé levé laterolaterální projekci. Po osmi dnech se znovu provedl rentgen – pravá laterolaterální a venterodorzální projekce dutiny hrudní. Všechny rentgeny byly bez patologického nálezu.

Rhinoskopie ukázala výraznou hyperemii a edematózní prosáknutí bilaterálních konch a střední části dutiny nosní, při doteku sliznice ihned krvácela, přítomno bylo malé množství čírého hlenu. Na CT nebylo nic nalezeno. V nosohltanu byla nalezena světlá ložiska ve sliznici vyvyšující se nad povrch, výrazný otok a hyperemie obou krčních tonzil, paranasální dutiny vzhledem k výraznému otoku nebylo možné vyšetřit. Zárok byl proveden v celkové inhalační anestezii. Kanylou mu byl podán medetomidin, butorfanol, buprenorfin a propofol. V inhalační anestezii byl použit isofluran ve směsi s kyslíkem. Antagonizace byla provedena atipemazolem. V průběhu anestezie byl pacient na vyhřívané podložce a připojen na monitoring životních funkcí (spirometrie, kapnometrie, EKG, pulzní oxymetrie).

Následně byl proveden Indexx SNAP DX4 test na choroby šířené ektoparazity; *Anaplasma phagocytophilum* a *A. platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* a *E. ewingii*. Všechny výsledky byly negativní. Proběhlo vyšetření ANA testu, revmatoidního faktoru, oboje s negativním výsledkem.

Při sonografickém vyšetření (USG) měla prostata normální velikost i tvar, byla hmoechoogenní. Náplň močového měchýře byla čistě anechoogenní, z ½ naplněn, stěna byla hladká a nezesílená. Obě ledviny měly normální velikost i tvar s dobře znatelným přechodem kůra/dřeň 1:1, s normoechoogenní kůrou a dřevím, pánvička byla v pořádku. Slezina byla suspektně zvětšená. Játra měla ostré okraje, hmoechoogenní parenchym a cévy v pořádku. Žlučový měchýř, střeva a žaludek byly v pořádku.

### 4.2.4 Diagnóza

Na základě cytologického nálezu v ductech veterinární lékař nevyklučoval malignitu. Vzorky byly poslány na cytologické vyšetření specialistovi. Cytologická diagnóza byla specialistou stanovena jako lymfoidní/plazmocytární hyperplazie. Cytologický nález odpovídal reaktivní mízní uzlině. Primární příčinu nešlo určit, veterinární lékař se domníval, že

nejpravděpodobněji se ve svodné oblasti nacházel zánětlivý proces. Ve vzorku sice nebyly nalezeny žádné znaky malignity, nicméně lymfom nešlo vyloučit.

Zpočátku se veterinární lékař kvůli opakovanému krvácení z nosu obával, že má pes v nose kus trávy či trn z růží ze zahrady majitelů, který by mu mohl putovat hlavou, avšak během rentgenologického a rhinoskopického vyšetření se nenašlo žádné cizí těleso. Po vyšetření i po doporučení specialistou byl proto pacient referován na CT/MRI nosu a čelisti, popřípadě rhinoskopii včetně histopatologického vyšetření sliznice na specializovanou kliniku.

#### **4.2.5 Terapie**

Za začátku léčby byl na prvotní problémy veterinárním lékařem Lexovi aplikován Rimadyl (3,3 ml) a dále na 3-4 dny předepsán Rimadyl 50 mg (1-0-1) a lokálně doporučen Stomodine (3x denně). Při následujících kontrolách léčba pokračovala se Stomodinem (2x denně). Po aplikaci antibiotik se stav vždy zlepšil a útvary se zmenšily. Následně se opět stav psa zhoršil a útvary se zase zvětšily. Tato opakovaná zlepšení a zhoršení stavu se opakovala úplně stejně i po následujících 2 různých antibioticích. Na základě stále vysokého CRP (C – reaktivní protein) se provedla změna antibiotik na lék Zobuxa 150 mg (1,5-0-0), kterou užíval následujících 14 dní. Po léčbě se stav psa mírně zhoršil. Majitelka poté zkusila nasadit monodietu. Bylo zjištěno, že výživa neměla vliv na projevy kýčání. Následně byla opět provedena změna antibiotik na Doxybactin 400 mg, která užíval dalších 14 dní (1-0-1). Lexovi byl také píchnut Ancesol (4,5 ml s.c.) a dostával sáček Fortiflory (1x denně). Majitelka později uvedla, že po léčbě Doxybactinem začal být aktivnější.

### **4.3 VETERINÁRNÍ PRACOVISTĚ 2**

#### **4.3.1 Anamnéza**

Viz anamnéza z pracoviště 1.

#### **4.3.2 Klinické vyšetření**

Při vyšetření triasu byla naměřena teplota 38,9°C a puls 96/min. Při poslechu dechu byla slyšet tachypnoe. Podle popisu veterinárního lékaře byl pacient aktivní, měl zájem o okolí. BCS odpovídalo 3/9, stav psa byl popsán jako příliš hubený. Žebra bylo možné nahmatat a byla viditelná. Vrcholky bederních obratlů byly viditelné, pánevní kosti vyčnívaly. Pas byl zřetelný a viditelně bylo vtažené i břicho. Popliteální a preskapulární mízní uzliny byly stále mírně zvětšené, avšak nebolestivé. Sliznice byly růžové, CRT bylo do 2s. Plicní pole bylo auskultačně bez přidatných šelestů, sklípkové dýchání, srdeční úder byl ohraničený, synchronní s periferním pulzem, pulz na aa. femorales oboustranně symetrický. Abdomen byl zkontrolován pohmatem a v oblasti sleziny byla hmatná výrazná válcovitá rezistence. V obou pycích byl palpovatelný měkký oválný útvar, který byl nebolestivý. Podobný útvar byl hmatný i kraniálně v oblasti hlezna levé nohy, na kterou předtím kulhal. Hlezno bylo oteklé, temperující, ale na pohmat nebolestivé.

### 4.3.3 Laboratorní a jiná vyšetření

Magnetická rezonance (MRI) hlavy ukázala generelně méně vzdušnou nosní dutinu, bez strukturálních změn, bez efektu masy. Nosohltan a frontální siny byly vzdušné. Endoskopií (flexibilní fibroskop 3 mm) byly vyšetřeny obě nozdry bez nálezu cizího tělesa, sliznice byla mírně hyperemická a zduřelá. Bylo ověřeno, že nosohltan je prostorný a bez nálezu cizího tělesa. Pod sonografickou kontrolou byly provedeny dvě tenkojehelné biopsie sleziny. Tenkojehelná biopsie byla také provedena z útvarů na pysku, útvaru na hleznu a na preskapulárních mízních uzlinách. Cytologický rozbor sleziny odhalil vysokou kontaminaci krví, vysokou buněčnost a převažující populaci malých lymfocytů. Místy se nacházely středně velké a velké lymfocyty, hojně plazmocyty a místy makrofágy většinou s fagocytovanými amastigoty Leishmanií. Amastigotní stádia Leishmanií byla také hojně nalezena volně mezi buňkami. Z cytologického vyšetření útvarů a mízních uzlin byl nalezen pyogranulomatózní a plazmocytární zánět, ojediněle se nacházeli amastigoti leishmanií.

### 4.3.4 Diagnóza

Veterinární lékař diagnostikoval toto onemocnění jako viscelární formu leishmaniózy. Pes se pravděpodobně nakazil před dvěma lety (od prvního krvácení z nosu) na dovolené v italské Kalábrii. Prognózu viděl lékař nepříznivě, doporučil viscelární formu onemocnění pouze kontrolovat a zlepšit jen klinické příznaky. Uvedl, že je možná remise většinou v řádu měsíců až několika let, dle zvolené terapie.

### 4.3.5 Terapie

Lékařem bylo doporučeno užívání léku Allopurinol 15 mg/kg 2x denně (Purinol 300 mg 2 tablety 2x denně, min. 1 měsíc), pokud by nereagoval na terapii případně kombinace s Milteforanem p.o. nebo Glucantime i.v. Lékař z veterinární nemocnice sdělil majitelům, že pes má jen pár týdnů života. Léčbu Milteforanem ale nedoporučoval. Lékař majitelům poradil nechat psa v klidu dožít.

## 4.4 VETERINÁRNÍ PRACOVŠTĚ 3

### 4.4.1 Anamnéza

Zhruba po 14 dnech po určení diagnózy byli majitelé na prvním vyšetření u veterinárního lékaře na třetím pracovišti. Tou dobou Lex již týden nepil, ale ani nezvracel. Majitelé mu dávali vodu do potravy, kterou ale později kvůli vodě nechtěl také přijímat. Majitelé se snažili psa hydratovat, ale ani po nátlaku vodu nechtěl. Na procházce začal kulhat na jednu nohu kvůli bolesti drápu. Ten se mu vydroil tak, že byl až dutý. Majitelé ulevovali psovi od bolesti a zánětu koupelí ve vlažné vodě s jádrovým mýdlem a Betadinou. Špičku ocasu



Obrázek 8: Holá špička ocasu (autor).

měl suchou a holou (obr. 8), majitelé opakovaně aplikují na ocas stříbro. Majitelka ho od začátku krmila nízkopurinovými granulemi Bellfor Natural Farm Schmaus, které obsahují hmyzí protein a jsou za studena lysované.

#### 4.4.2 Klinické vyšetření

Pes byl unavený, bez nálady a bez radosti ze života. Psovi se snižovala hmotnost, po příjmu potravy nepřibíral, ale naopak hubnul. Pes měl eroze na obou horních pyscích (obr. 9-13) a roztřepeně i drolicí se drápy. Na levé pánevní končetině měl distálně tylom se zánětem. Na rozdíl od jiných pacientů s leishmaniózou neměl změny na uších. V listopadu 2022 byla nasazena první kúra Milteforanu (viz kapitola Léčba), po které se jeho stav velice zhoršil. Pes velmi zhubnul, trpěl nevolnostmi a měl zvýšenou teplotu. Během terapie se Lexovi objevil akutní zánět v uchu. Oba zvukovody byly lehce zarudlé, více ten levý. Bubínky byly v pořádku a výtok nebyl.



Obrázek 9, 10 a 11: Levá strana léze, vlevo ze dne 14.10.2022 (Jana Lvová), uprostřed ze dne 22.7.2023 (autor) a vpravo ze dne 12.12.2023 (autor).



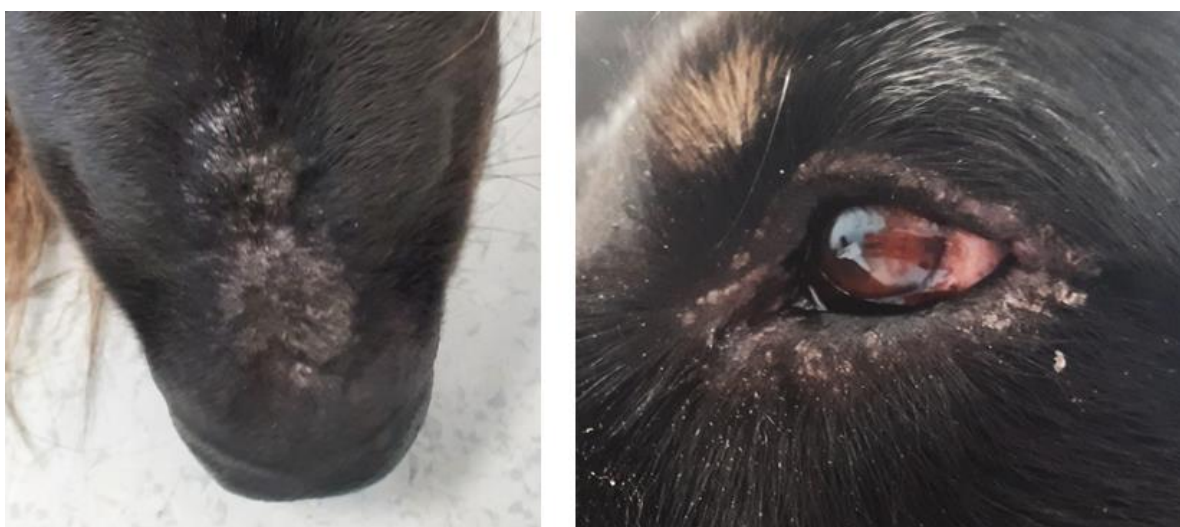
Obrázek 12 a 13: Pravá strana nálezu, vlevo ze dne 22.7.2023 (autor) a vpravo 12.12.2023 (autor).



V prosinci 2022 byl jeho výživný stav 5/9. Pes byl stabilizovaný, aktivní a bez pohybových potíží. Mírné zvětšení slinných žláz však stále přetrvávalo, taktéž chronické zvětšení mízních uzlin mandibulárních, preskapulárních a levé mízní uzliny popliteální. Na pravém lokti byl krvácející tylom bez hnisavého výtoku, pravý loketní tylom byl bez patologických změn. Přetrvávala mu chronická konjunktivitida a hojící se labiální dermatitida (obr. 14 a 15). S výjimkou mírně zduřelých slinných žláz a zarudnutí spojivky levého oka (obr. 17), byl v lednu 2023 bez klinických příznaků onemocnění. Pes docházel do ordinace jednou za měsíc. Po dvou měsících byl Lex však méně aktivní. Občas se mu opět zvětšily slinné žlázy, jinak byl bez problémů. Majitelé ho spíše v příjmu krmiva omezují, chuť je zachovaná.



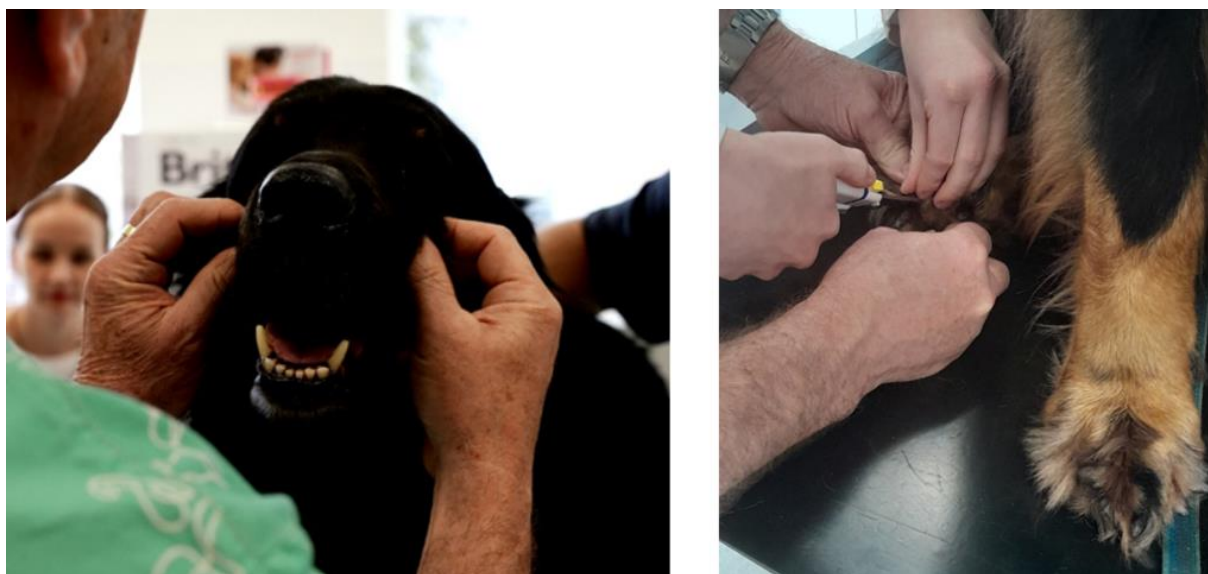
*Obrázek 14 a 15: vlevo rozsáhlé postižení tlamy s výraznými exfoliativními ulcerativními lézemi (autor) a vpravo vysušený čenich během zvýšené teploty v březnu 2024 (Jana Lvová).*



*Obrázek 16 a 17: vlevo šupiny na hřbetu nosu (autor), vpravo bilaterální blefaritida a konjunktivitida levého oka (autor).*

Na další kontrole po 14 dnech v dubnu 2023 byl pes poměrně stabilizovaný, měl ovšem stále zduřelé slinné žlázy (obr. 18) a ulcerativní stomatitidu na obou stranách pysků. Přetrvávalo zvětšení popliteálních mízních uzlin na levé pánevní končetině, jinak stav zůstal stálý.

Po nasazení druhé kúry Milteforanu v červnu 2023 měl pes stále zvětšené mízní uzliny, šupiny okolo čumáku i hřbetu nosu (obr. 16) a očí (obr. 17), také mu rostly rychle drápy (obr. 19). Levá popliteální uzlina byla na noze zvětšena více než pravá. Rána na tlamě se za poslední dny zlepšovala. Levá strana tlamy byla horší než pravá. V září 2023 byl stav v dosud nejvíce stabilizované formě. Pes začal na naše pracoviště docházet jednou za 3 měsíce.



Obrázek 18 a 19: vlevo palpační kontrola zvětšených mízních uzlin (21.4.2024) (Michal Kalbáč), vpravo střihání dorůstajících drápů (22.7.2023) (autor).

V lednu 2024 se znovu objevila epistaxe, otok slinných žláz ustupoval, v moči bylo extrémně vysoké pH. Léčba stále pokračovala s allopurinolem, epistaxe nebyla nijak léčena ani podán žádný lék. V březnu 2024 se majitelé dostavili na současně poslední kontrolu psa. Před týdnem měl Lex zvýšenou teplotu 40,8°C a leukocytózu, pes byl apatický a nechtěl moc přijímat potravu. Majitelé ho chladili na břicho a v tříslích a neprodleně navštívili pohotovost pracoviště 2, kde mu byla nasazena léčba (viz kapitola Léčba).

Po dvou dnech se stav psa stabilizoval. Jeho chování bylo klidné a vyrovnané. Sliznice a spojivky byly růžové, nozdry čisté (obr. 14). Na pyscích byly viditelné stopy po erozi (obr. 14). Srdeční ozvy byly ohraničené. Auskultačně vše v pořádku. Pulz byl pevný, synchronní a symetrický. V plicním poli bylo slyšet vezikulární dýchání, trachea byla nedráždivá, břicho prohmatné a nebolestivé. V uších se nevyskytovala zvýšená přítomnost mazu, nezapáchaly. Srst byla lesklá, kůže bez eflorescencí. Hmotnost byla 42,4 kg. V obou očích měl mírný serózní výtok, a navíc stále zarudlé spojivky (obr. 17). Pravá slinná žláza se postupně zmenšovala, levá se zmenšila úplně (obr. 18). Levá popliteální mízní uzlina byla chronicky stále zvětšená. Drápy byly zprvu roztřepené a drolily se. Během terapie postupně upadaly. Po léčbě na všech čtyřech končetinách byly drápy sice stále špatné kvality, ale začínaly již dorůstat



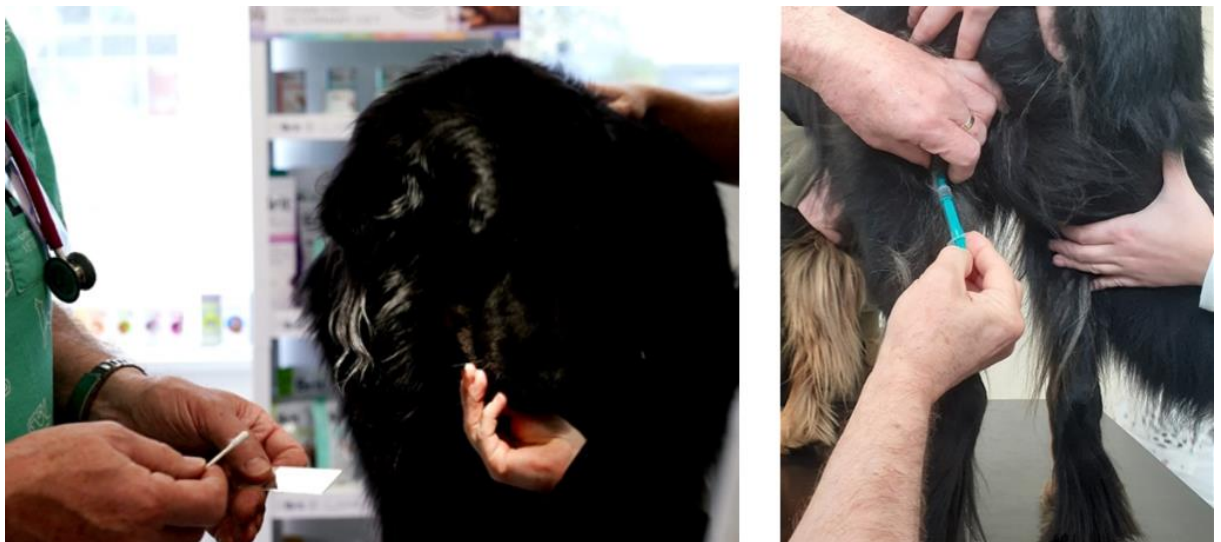
(obr. 19). Na přední levé končetině se na loktu stále nacházel tylom (obr. 20 a 21). Pes se choval přirozeně, piškot přijmul s chutí.



Obrázek 20 a 21: detail léze na levém lokti na přední končetině (Janá Lvová).

#### 4.4.3 Laboratorní a jiná vyšetření

Při pravidelných prohlídkách se zhruba 6x prováděly stěry z obou spojivkových očních vaků (obr. 22) a otiskového preparátu z levého pysku a odběr vzorku tenkojehelnou aspirační biopsií z tylomu na levé zadní končetině (obr. 23). Po obarvení a mikroskopickém vyhodnocení vzorků nebyla zjištěna žádná amastigotní stádia, v otisku z pysku byly nalezeny zánětlivé neutrofilie, infekční agens nebyl prokázán. Organové nálezy a výtěry byly negativní. Během každé návštěvy pacienta byly také provedeny kontroly krevních nálezů ze vzorku séra, které jsme posílali na vyhodnocení do německé laboratoře Laboklin (viz grafy 1-16). V naší ambulanci v žádném vzorku nikdy nenašla amastigotní stádia *Leishmania*.



Obrázek 22 a 23: vlevo stěr ze spojivky (21.4.2024) (Michal Karláč) a vpravo odběr z tylomu dolní končetiny (22.7.2023) (autor).

V březnu 2024 byly na pracovišti 2 pomocí Testu Rapid caniV 4 detekovány slabě pozitivní protilátky proti anaplasmě. V krevním séru se také zvyšovaly protilátky proti *Leishmania*.

Na pracovišti 3 jsme pravidelně vyšetřovali spotánní mikcí odebranou čerstvou moč, kterou jsme pak odstředili v centrifuze a následně vyšetřili močový sediment. Močový sediment byl neaktivní, kromě jednoho případu, kde byla v moči krev, obsahoval za normálních podmínek minimum erytrocytů, četné buňky přechodného epitelu, ojediněle leukocyty či výjimečně granulární válec.

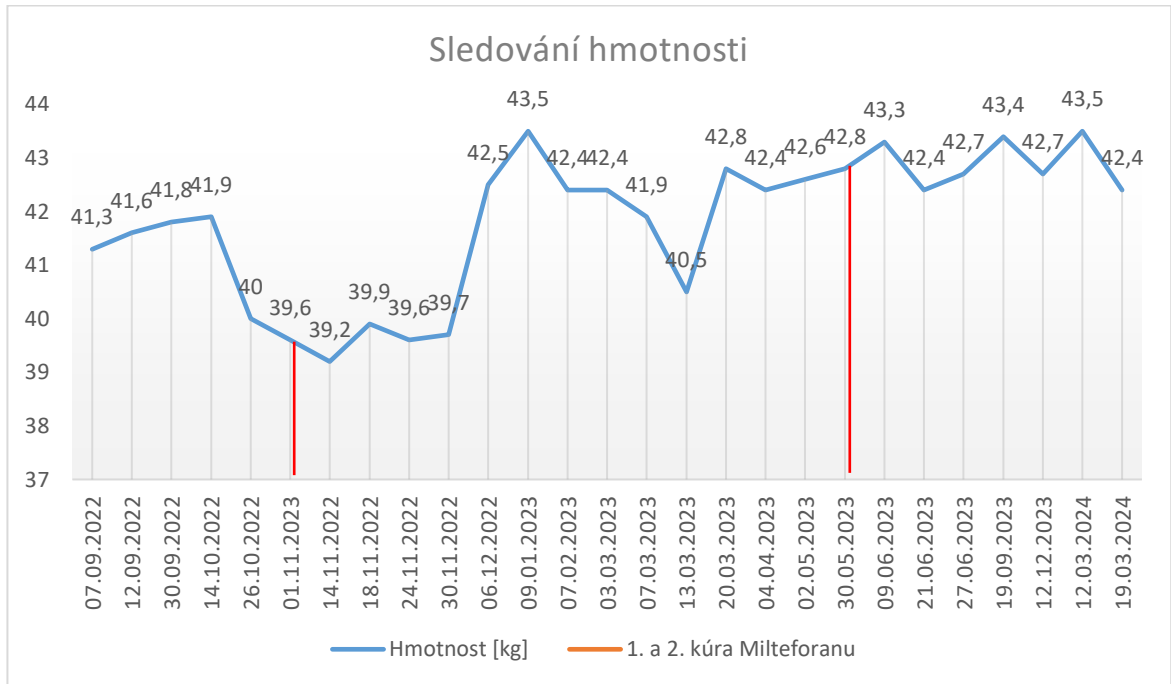
V tabulce 3 jsou zaznamenány průběžné výsledky, které jsme získali vyšetřením moči pomocí diagnostických močových proužků od firmy Urispec Plus. Přístrojem Catalyst IDEXX Labstation byl vyšetřen 7.2.2023 vzorek moči psa získaný spontánní mikcí. Po odběru moči jsme moč odstředili v centrifuze a použili pro vyšetření UP/UC. Výsledný poměr UP/UC byl 0,08, což odpovídá <0,5 a poměr je tedy v referenčním rozmezí.

Tabulka 6: Chemické vyšetření a hustota moči měřené na pracovišti 3.

	7.3.2023	4.4.2023	2.5.2023	19.5.2023	30.5.2023	27.6.2023
<b>Krev</b>	Neg.	Neg.	x	Neg.	Neg.	Neg.
<b>Urobilinogen</b>	Norm.	Norm.	Norm.	Norm.	Norm.	Norm.
<b>Bilirubin</b>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
<b>Bílkoviny</b>	x	x	Neg.	x	Neg.	Neg.
<b>Dusitany</b>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
<b>Ketony</b>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
<b>Glukóza</b>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
<b>pH</b>	5,5	6	6	6	6	6
<b>Leukocyty</b>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
<b>Specifická hmotnost</b>	1,042	1,050	1,035	1,035	1,034	1,015

Z tabulky 1 v rozmezí 7.3.2023 až 27.6.2023 byla v jednom případě nalezena krev na jeden křížek, ve třech měření bílkoviny také na jeden křížek, které časem klesly na negativní. pH bylo lehce ze začátku sníženo, při následujícím měření se hodnota také stabilizovala a od té doby se hodnota udržuje. Specifická hmotnost při posledním měření klesla na dolní hranici. Hodnoty urobilinogenu, bilirubinu, dusitanů, ketonů, glukózy a leukocytů byly za celou dobu tohoto měření negativní a nezměněny.

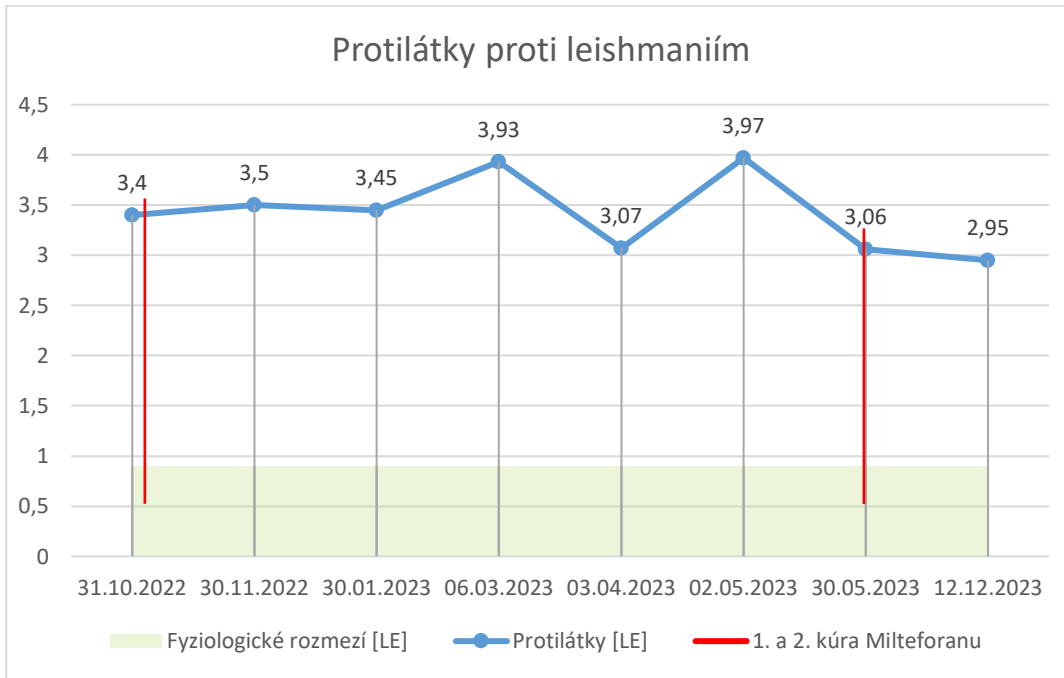
Graf 1



V průběhu září 2022 se Lexova tělesná hmotnost mírně zvyšovala, jeho průměrná hmotnost byla tou dobou okolo 41,5 kg. Naopak v říjnu 2022 začala klesat a v průběhu listopadu se držela mezi 39-40 kg. Po nasazení první kúry Milteforanu pes přestal přijímat potravu, což je odraženo i v grafu. Dne 3. ledna 2023 dobral poslední dávku Milteforanu a jeho hmotnost se obratem zvýšila až na 43,5 kg. V polovině března 2023 byl v grafu zaznamenán výkyv tělesné hmotnosti na 40,5 kg, poté se i přes nasazení druhé kúry Milteforanu až do posledního měření držela s minimálními odchylkami v rovině okolo hodnoty 43 kg.

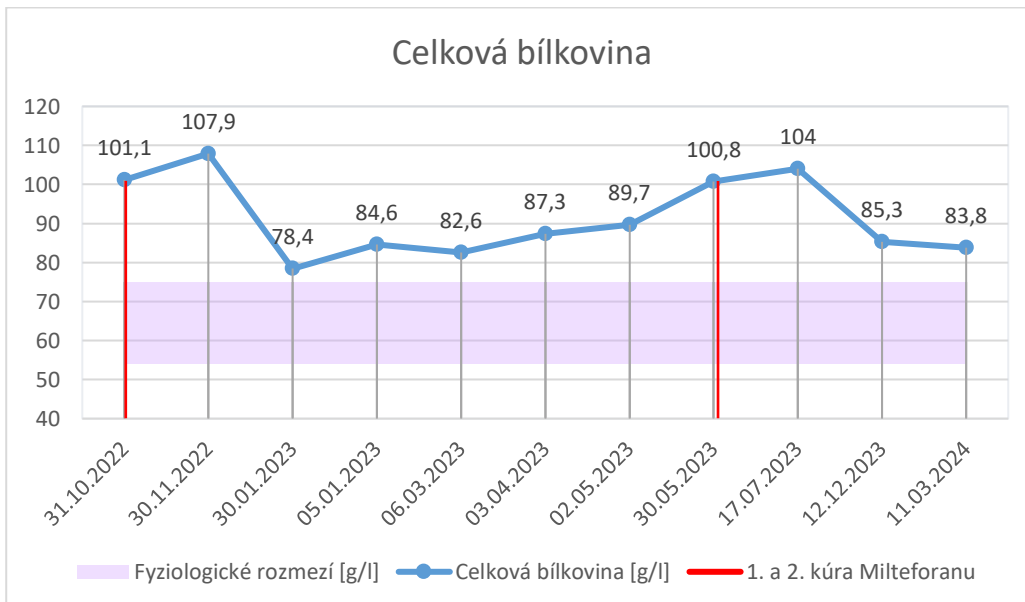
Proteinovou elektroforézou se naměřily hodnoty celkové bílkoviny, AG poměru, albuminu a globulinů.

Graf 2



V průběhu léčby byly u Lexe sledovány protilátky proti leishmaniím obsaženy v krvi. Hodnoty jsou vysoce nad fyziologickým rozmezím, značně identifikující přítomnost leishmanií. Hodnoty jsou si podobné, nejsou mezi nimi extrémní výkyvy, tudíž nelze říct, že by na ně měla léčba vliv.

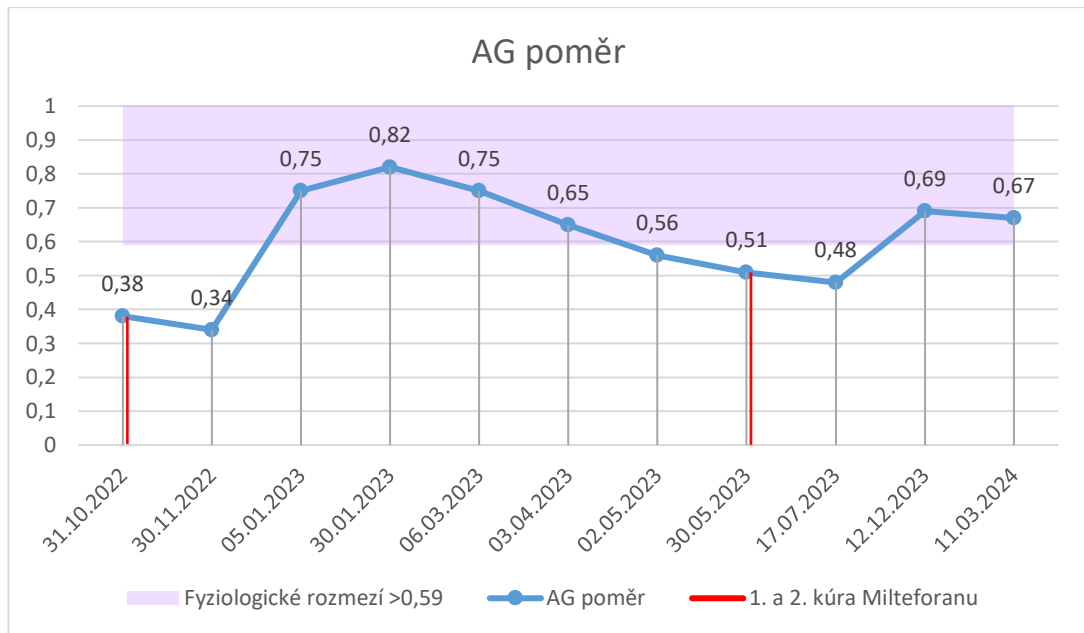
Graf 3



Na potlačení zánětu jsme začátkem listopadu nasadili první kúru léku Milteforan, kterou ještě tentýž měsíc dobral. Ihned poté hladina celkové bílkoviny rapidně klesla. V průběhu následujících 5 měsíců se postupně pomalu opět zvyšovala až k podobné hodnotě, jako která byla naměřena v listopadu 2022. V červnu byla nasazena druhá kúra Milteforanu, hladina

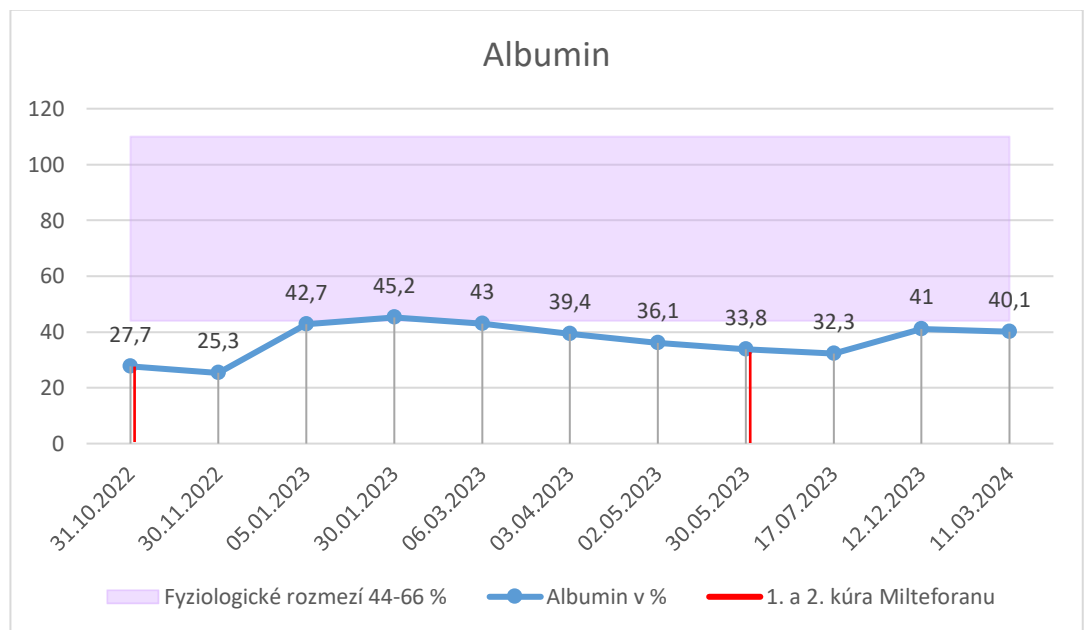
celkové bílkoviny byla v průběhu léčby stále zvýšená. Hladina klesla následně po 2 měsících po léčbě Milteforanem a byla opět doposud stabilní.

Graf 4



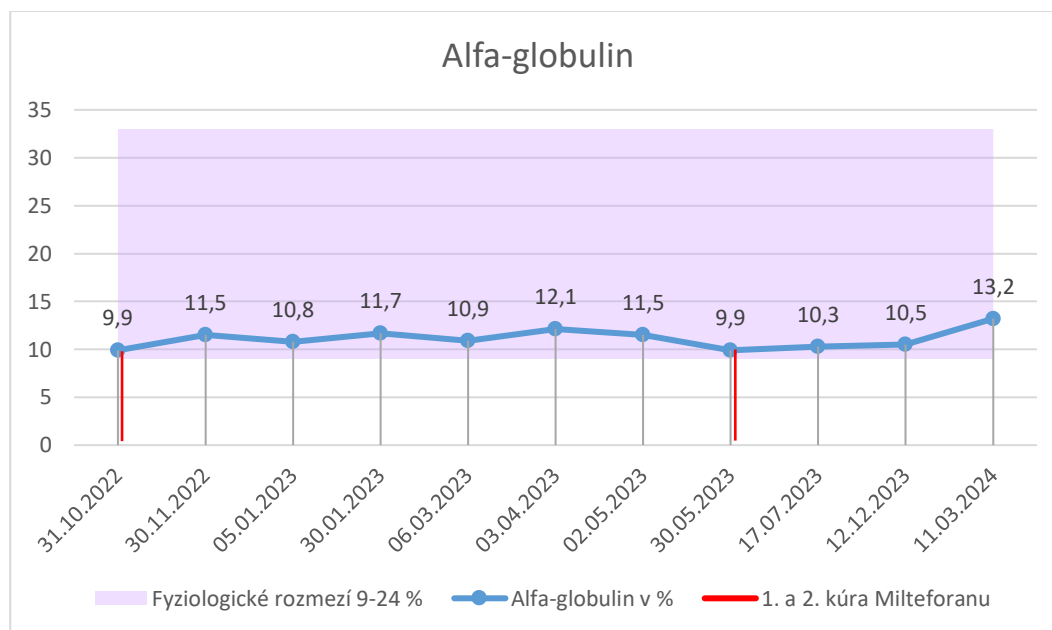
Před léčbou a v průběhu léčby Milteforanem v listopadu 2022 byl AG poměr u Lexe nízký, pod hodnotu fyziologického rozmezí. Až zhruba po dvou měsících po dobrání první kúry se AG poměr rapidně zvýšil do hodnot fyziologického rozmezí. V následujících 5 měsících hodnota AG poměru pozvolna klesala, až se dostala opět pod hraniční hodnotu. Po druhé kúře Milteforanu se hodnota zvýšila během několika měsíců do fyziologického rozmezí, ve kterém se drží doteď.

Graf 5



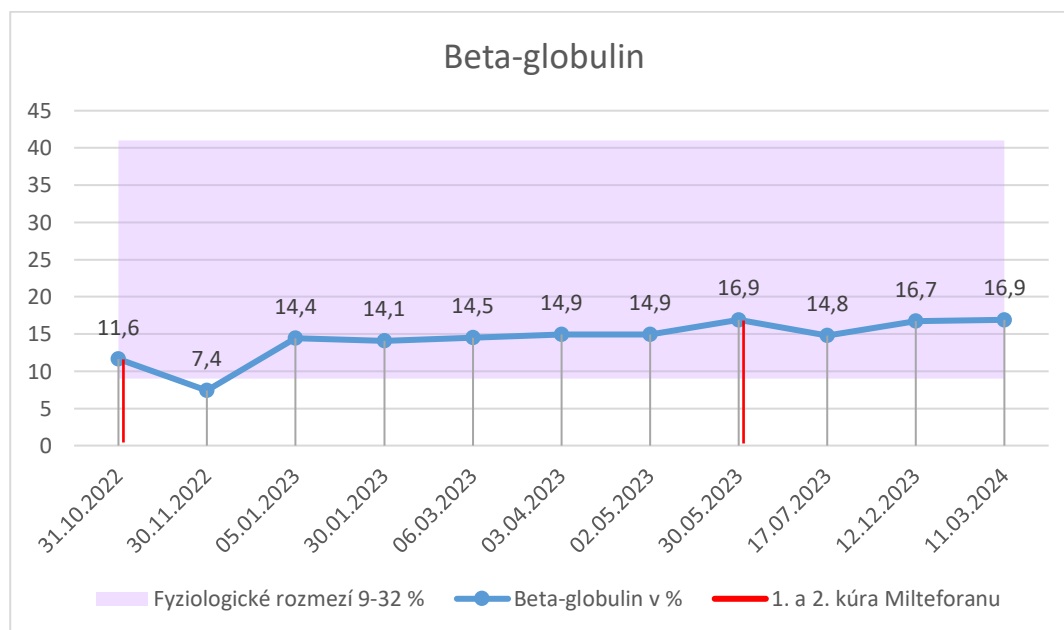
Před začátkem léčby a během ní byla hodnota albuminu pod fyziologickým rozmezím. Po dobrání léku se hladina ihned zvýšila a přiblížila se na hranici fyziologického rozmezí. Následujících 7 měsíců hladina albuminu pozvolna klesala. Opět po několika měsících po nasazení druhé kúry Milteforanu se hladina dotýkala nižší hranice fyziologického rozmezí, ale časem se dá očekávat opět její pokles.

Graf 6



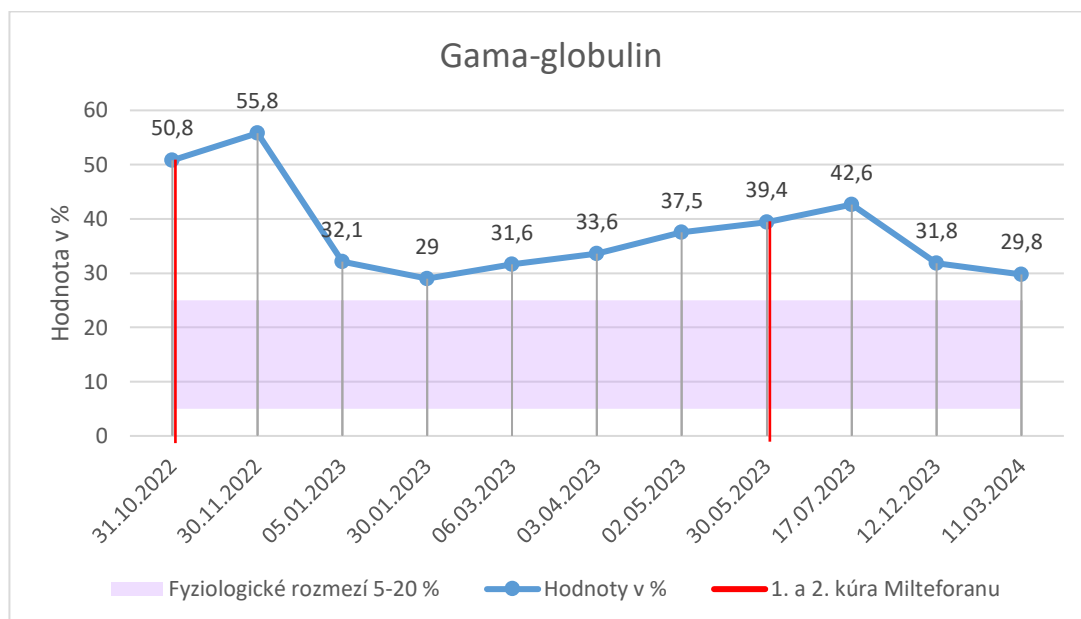
Hodnota alfa-globulinu byla po celou dobu léčby na přibližně stejné hodnotě bez znatelných výkyvů v rozmezí standartní hodnoty.

Graf 7



Hodnoty v grafu byly v průběhu léčby stálé, menší snížení hodnoty nastalo vždy ihned po dobrání Milteforanu, měsíc po jeho začátku. Kromě výchytky na konci listopadu během po první kúře se hodnota grafu již pod fyziologické rozmezí nesnížila.

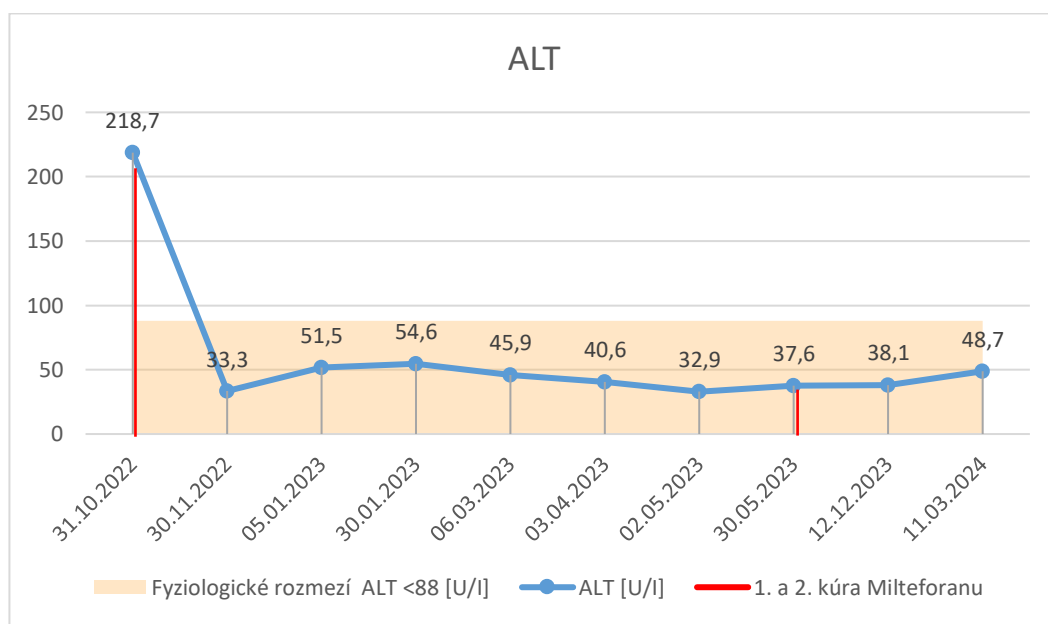
Graf 8



Nejvyšší hodnota v grafu byla naměřena při dobrání první kúry léku Milteforanu. Následující měsíc klesala až do konce ledna 2023, od té doby nepatrně opět vzrůstala. Po zhruba měsíc od léčby druhou kúrou Milteforanu se hodnota snižovala. Během pozorování a léčby se nikdy hodnota nevyskytovala ve fyziologickém rozmezí.

V diagnostické laboratoři byly kontrolovány hodnoty jaterních enzymů, močoviny a kreatininu.

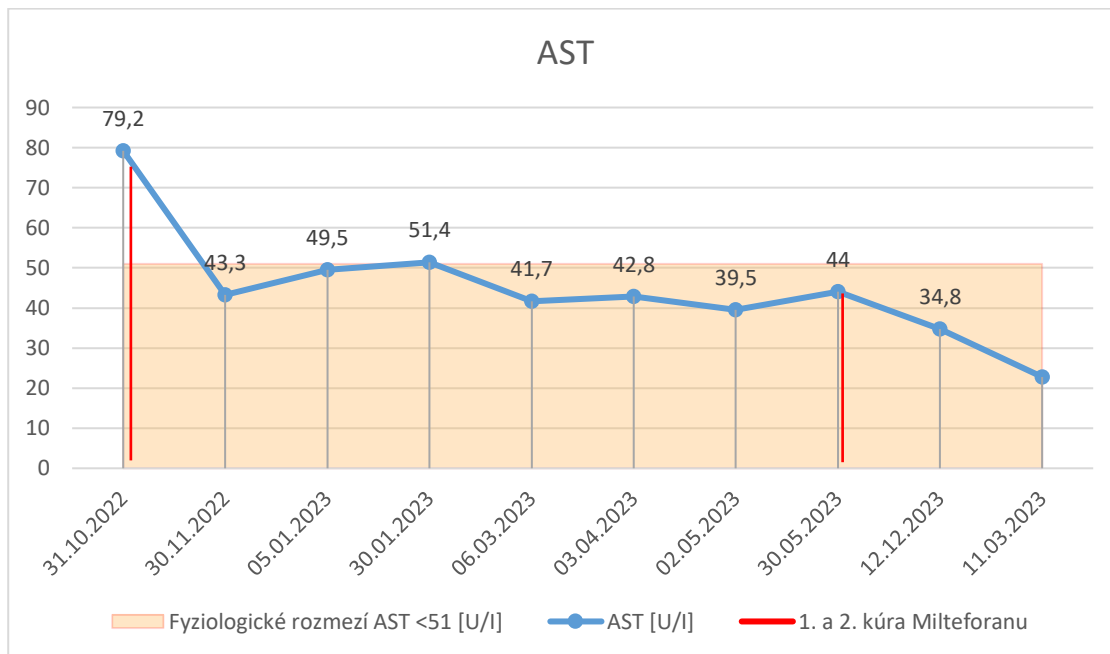
Graf 9





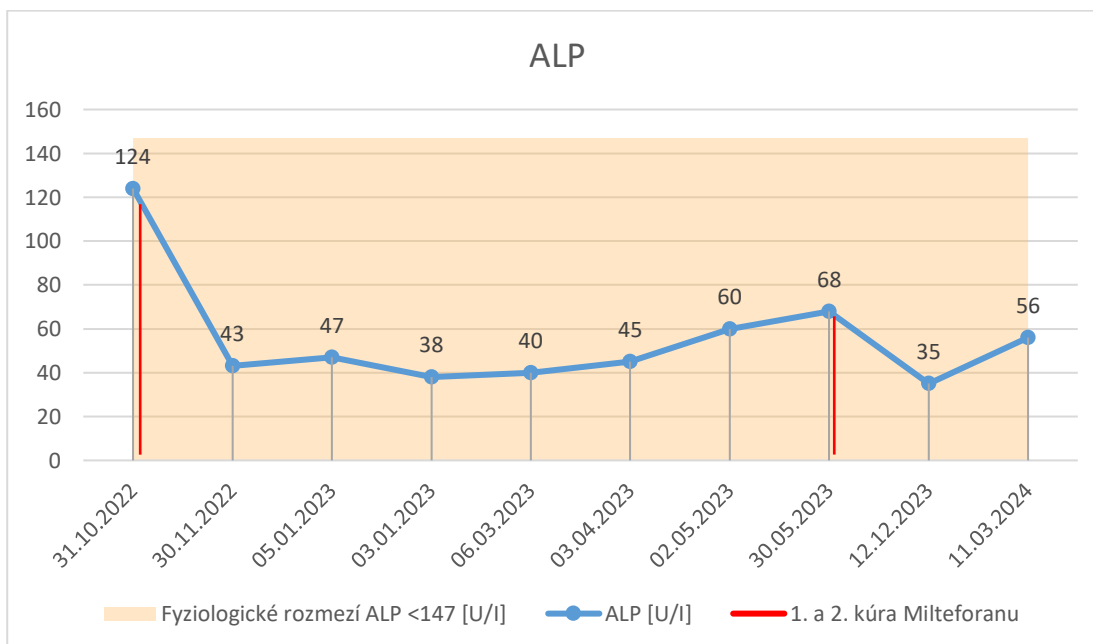
Nejvyšší hodnota vysoko nad hranicí fyziologického rozmezí byla naměřena při prvním laboratorním testu na ALT na konci října 2022. V tu dobu byla nasazena první kúra Milteforanu. Následující měsíc hodnota rapidně klesla a vrátila se do fyziologického rozmezí.

Graf 10



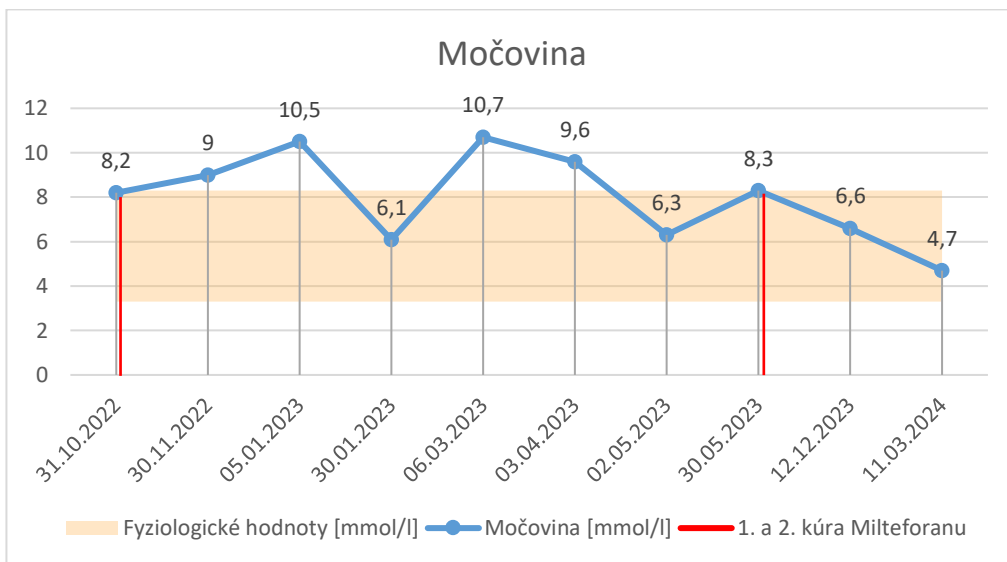
Nejvyšší hodnota byla naměřena z kraje léčby první kúrou Milteforanu na konci října 2022. Po měsíci klesla o polovinu své hodnoty do fyziologického rozmezí AST. Po zbytek léčby se hodnoty lehce odlišovaly, z dlouhodobého hlediska lze ale říct, že hladina AST v krvi klesá.

Graf 11



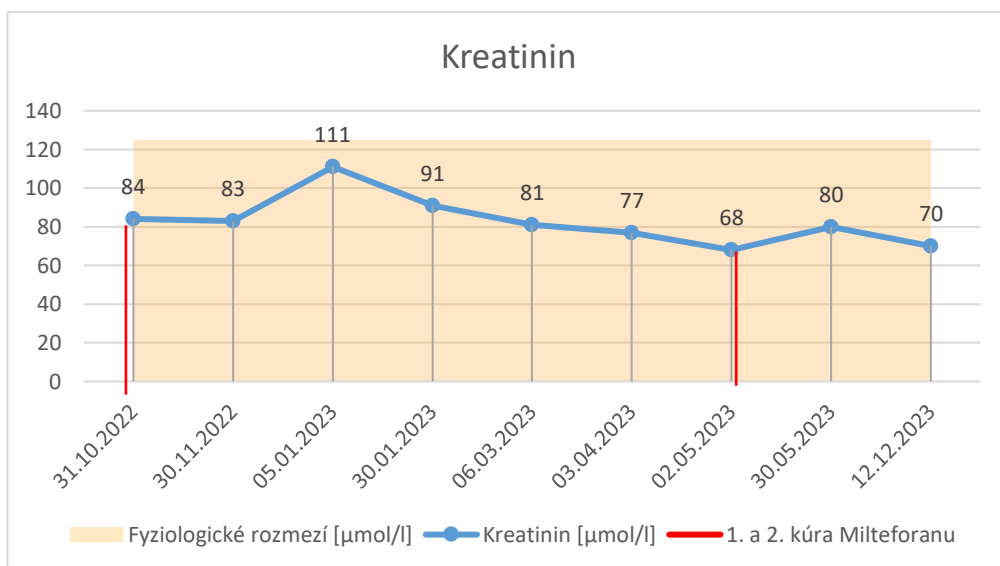
Při nasazení první kúry Milteforanu se křivka skoro o svou třetinu snížila. Během následujících pěti měsíců se hodnoty zásadně nelišily, až na lehký nárůst začátkem května, který vyústil na vrchol na konci května 2023. Po nasazení druhé kúry Milteforanu hodnota vyšetřovaného enzymu klesla, do dnešních dní opět narůstá.

Graf 12



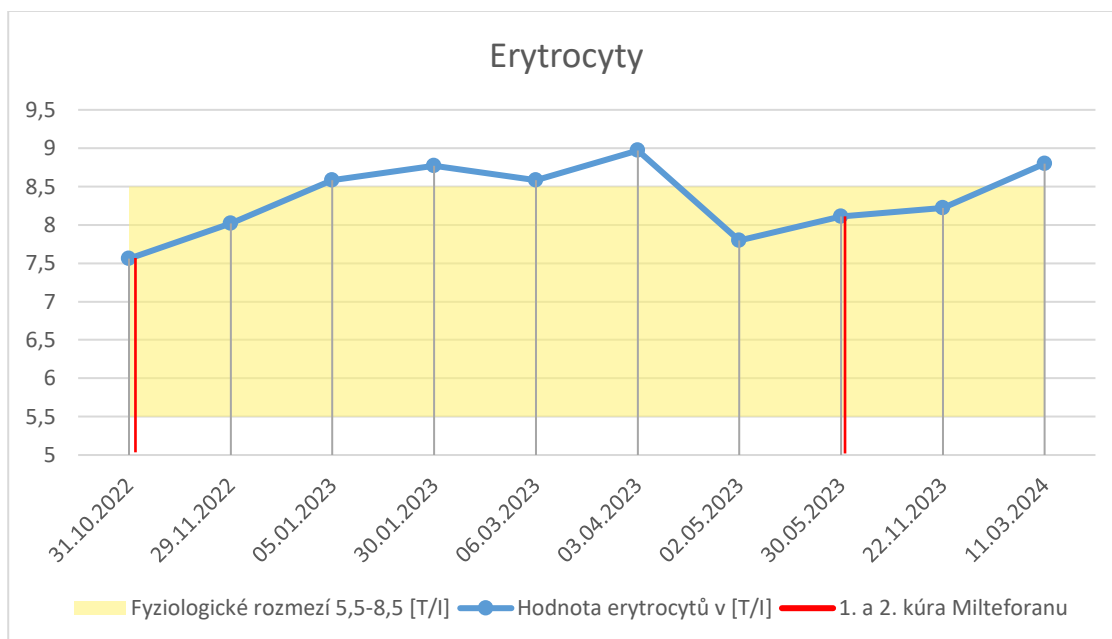
Na začátku měření hodnota křivky dosahovala na horní hranici fyziologického rozmezí hodnoty močoviny. Po dva měsíce od nasazení první kúry Milteforanu postupně rostla, ale během ledna rapidně klesla do fyziologického rozmezí. Následující dva měsíce vzrostla na maximální hodnotu v grafu a od té doby postupně každým měsícem klesá až do května 2023, kde měla ještě jeden výkyv hodnoty na horní hranici fyziologického rozmezí. Od 1. června byla nasazena druhá kúra Milteforanu a od té doby hodnota klesá a udržuje se ve fyziologickém rozmezí.

Graf 13



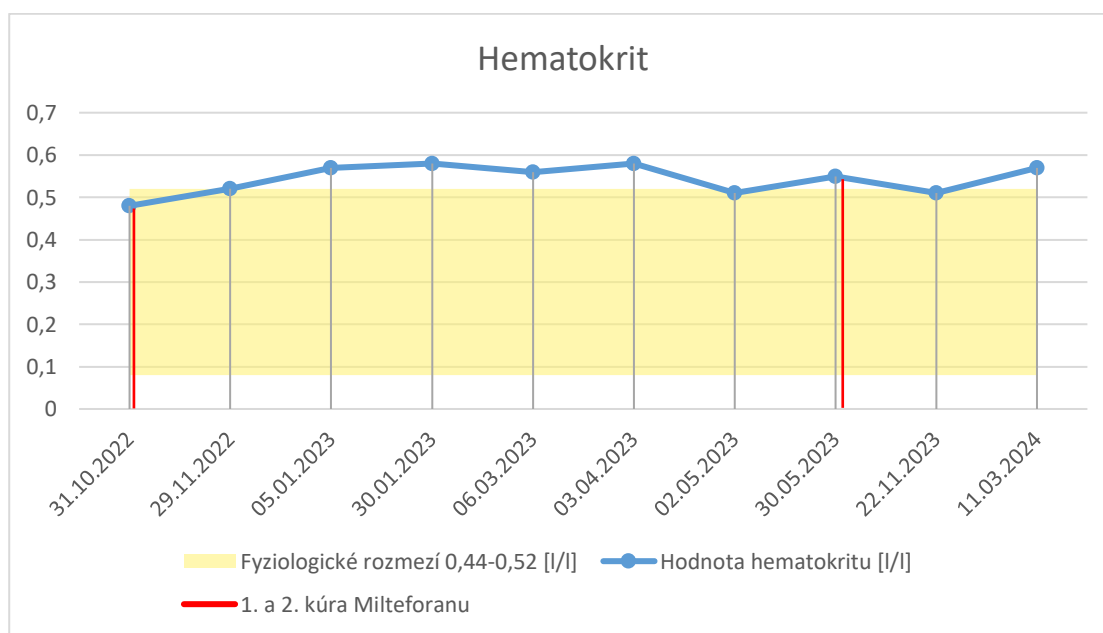
Mírný nárůst hladiny kreatininu v krvi vzrostl v lednu 2023, až tři měsíce po začátku první kúry Milteforanu. Poté pravidelně klesal do května 2023, kde byla nasazena druhá kúra. I po ní křivka nadále z dlouhodobého hlediska klesá. Všechny hodnoty kreatininu v grafu byly během studie ve fyziologickém rozmezí.

Graf 14



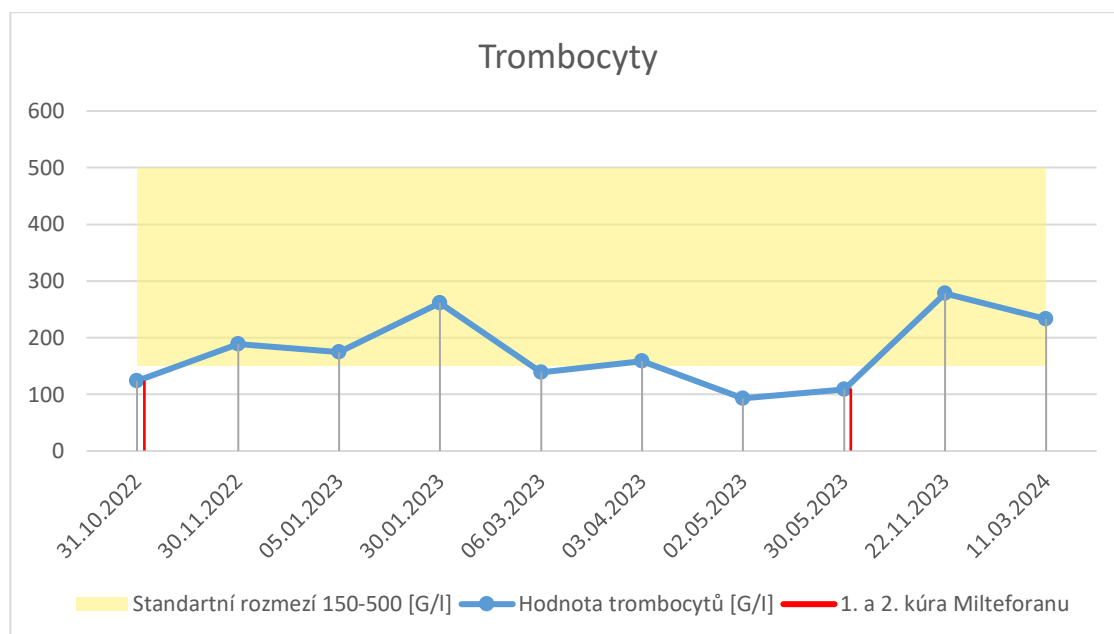
Po léčbě první kúrou Milteforanu se hladina erytrocytů průběžně zvyšuje. Od dubna 2023 náhle klesá a po druhé kúře Milteforanu začíná opět vzrůstat.

Graf 15



Hladina hematokritu je zprvu 31. října 2022 v rozmezí standartních hodnot, postupně však mírně stoupá a následujících 6 měsíců se udržuje nad horní hranicí mimo standartní hodnoty. V době podání druhé kúry Milteforanu jsou drobné výchyly okolo horní hranice referenčního rozmezí, které se střídají chvíli ve standartních hodnotách, chvíli nad horní hranicí.

Graf 16



Hodnota trombocytů se po celou dobu léčby pohybovala při dolní hranici referenčního rozmezí. Po aplikaci Milteforanu je z grafu patrné, jak se hladina trombocytů postupně zvyšovala a po několika měsících dosáhla nejvyšších hodnot, kdy poté opět klesala, dokonce nejméně 3 měsíce se pohybovala pod dolní hranicí referenčního rozmezí, dokud se neaplikovala další kúra.

#### 4.4.4 Diagnóza

Onemocnění Lexe bylo veterinárním lékařem z pracoviště 2 správně diagnostikováno a veterinárním lékařem z pracoviště 3 potvrzeno, že se jedná o viscerální formu leishmaniózy.

#### 4.4.5 Terapie

Během první návštěvy pracoviště 3 v listopadu 2022 majitelé souhlasili s nasazením kúry Milteforanu. Velikost dávky jsme vypočetli na základě pokynů výrobce z příbalového letáku, a to 20 mg/ml per os. Před a po první kuře Milteforanu byl Lex unavený a méně si hrál. Po 14 dnech užívání se u Lexe objevilo první nechutenství, které bylo provázeno snížením váhy (viz graf 1). O dva dny později byl jeho stav velice špatný. Tělesná teplota byla zvýšena na 40,9°C, pes odmítal přijímat jakoukoli potravu. Po nasazení léku se nejdříve zhoršily změny mezi meziprstí, pánevní končetině, pyscích a zvětšovaly se mízní uzliny. Standartní léčba kúrou Milteforanu trvá 28 dnů. Obvykle dojde k potlačení infekce a většinou na 2-4 měsíce příznaky odezní. Leishmanióza je onemocnění, u kterého nikdy nemůžeme říct, že by bylo vyléčeno.

Leishmanie se udržují v těle psa a jak se začnou prosazovat, stav psa se opět zhoršuje, proto je zapotřebí aplikovat antibiotickou léčbu, aby se potlačila bakteriální infekce. Veterinárním lékařem mu byl proto také nasazen Amoxicilin clavunát. Antibiotická léčba nemá žádný vliv na původce leishmanií, působí ale proti sekundární infekci. Následující dny měl Lex stále nevolnost a nejedl. Jako symptomatická léčba mu byla píchnuta Cerenia (antiemetikum), aby se zklidnil gastrointestinální trakt. Teplota poté klesla na 39,6-39,9°C. Následující dny mu na pysku zmizela ½ levé eroze. Po pár dnech konečně začal přijímat potravu.

V průběhu léčby se u Lexe objevil zánět v uchu. Zánět byl pravděpodobně projevem disbalance zvířete, které bylo vysíleno leishmaniózou, tudíž se objevil jako projev reagující na celkový stav psa. Leishmanióza totiž nemá vztah k otitidám, a proto s leishmaniózou nesouvisí. Veterinárním doktorem mu byly na zánět předepsány ušní kapky Otibiovin, které majitelé doma pravidelně aplikovali 4 dny 3–4x denně, po 3 dnech 2–3 x denně v množství 4–5 kapek. Po zlepšení přestali majitelé kapky aplikovat. Po 2 dnech od ukončení léčby zánětu v uchu pes několikrát do hodiny chodil v noci v obývacím pokoji dokola s hlavou skloněnou levým uchem k podlaze, kapala mu tekutina z nosu, nemohl spát a seděl s hlavou v záklonu. Zánět v uchu se mu vrátil. Majitelé zopakovali léčbu kapkami, psychický stav psa se opět zlepšil, mohl spát a zánět byl vyléčen. Pes znovu začal přijímat potravu a nevolnosti skončily. Skončilo se s podáváním Milteforanu. Antibiotika většinou stav Lexe zlepšila, ale po čase se opět vrátil do původního stavu.

Od začátku léčby dostává Lex lék Purinol, který mu byl již nasazen na pracovišti 2 (15 mg/kg). Léčivá látka alopurinol snižuje riziko poškození ledvin a zároveň riziko vzniku ledvinových kamenů. Zabraňuje tvorbě kyseliny močové v organismu, což vede ke snížení její hladiny v krvi a moči. Purinol je standartní součástí léčby a kontroly leishmaniózy. Bylo doporučeno pokračovat v jeho podávání.

V průběhu léčby se jako vedlejší projev leishmaniózy Lexovi objevil malý zánět v pravém okem. Na to veterinární lékař předepsal kapky Floxal. Zánět v oku byl léčen jako lokální problém.

V červnu 2023 byla nasazena druhá kúra Milteforanu. Po terapii Milteforanu se opět zvýraznily příznaky zánětů. Zhoršil se zápach a zánětlivé změny na pyscích. Při vyšetření moči byla nalezena krev. Kvůli příznakům zánětu močového měchýře a vývodných cest močových veterinární lékař usoudil, že se nejedná o nefritidu, ale o cystitidu. Kvůli příznakům zánětu a stále zvětšeným popliteálním mízním uzlinám a frukóze na levé pánevní končetině mu byla předepsaná antibiotická kúra Clavaseptin 750 mg (amoxicilin clavunát) tbl. 100 x 750 mg x tbl. 30, který se psovi podával tři týdny na to. Po stabilizaci stavu po druhé kúře Milteforanu byl už jako dřív – aktivní, hravý a veselý.

V březnu 2024 byl Lex kvůli vysoké teplotě převezen na pohotovostní pracoviště 2, kde mu byl aplikován Betamox 5,1 ml s.c. a Vetalgin 4 ml s.c. O tři dny později Lex navštívil pracoviště č. 3. Veterinárním lékařem mu bylo doporučeno dokončit antibiotickou kúru a vydán Clavaseptin 750 mg v dávce 1-0-1 tbl a doporučen klidový režim.

## 5 Diskuze

Klinický obraz psů s leishmaniózou je značně variabilní a podle toho se odlišuje i typ biochemických abnormalit. Relativně časté jsou poruchy funkce ledvin a zánět a/nebo imunitní reakce; proto by měly být příslušné analyty vyhodnoceny u každého psa s podezřením na leishmaniózu nebo s již potvrzenou leishmaniózou. Podobně mohou být změněny biomarkery hepatobiliární nebo pankreatické dysfunkce v případech s pyogranulomatózními infiltráty v těchto orgánech (Paltrinieri et al. 2010).

Hematologické změny u leishmaniózy psů jsou nespecifické (Kiral et al. 2004). Nejčastější hematologickou změnou u leishmaniózy psů je mírná až středně těžká normocytární normochromní anémie (Kiral et al. 2004; Nicolato et al. 2013). Podle Alvar et al. (2004) může anémie souviset se zvýšenou hemolýzou v důsledku zachycení erytrocytů ve zvětšené slezině a játrech ve spojení se zánětlivou reakcí na infekci *Leishmania* (Alvar et al. 2004). Patogeneze anémie u psů s leishmaniózou však také zahrnuje další mechanismy, jako je snížená syntéza erytropoetinu v důsledku selhání ledvin (Paltrinieri et al. 2016). V našem případě u Lexe k anémii nedošlo, po celou dobu léčby měl hodnoty koncentrace hemoglobinu stále v referenčním rozmezí, naopak hodnoty erytrocytů a hematokritu byly často zvýšené (graf 14, 15). Hladina trombocytů (graf 16) se chvíli pohybovala pod dolní hranicí referenčního rozmezí. Zbytek parametrů hematologického vyšetření byl celou dobu v referenčním rozmezí. Jedinou výjimkou byla snížená hladina leukocytů naměřena 11.3.2024 v hodnotě 5,50 G/l pod fyziologickým rozmezím 6,0-12,0 G/l.

Mírná až středně těžká trombocytopenie je poměrně častá u psů s leishmaniózou bez souběžných infekcí. V případech s výraznou trombocytopenií je třeba mít dle Paltrinieriho et al. (2016) podezření na koinfekci s jinými patogeny přenášenými vektory (např. *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* nebo *A. platys*) nebo na jiné možné příčiny snížené koncentrace krevních destiček (Paltrinieri et al. 2016). Nejpravděpodobnějším mechanismem odpovědným za trombocytopenii u leishmaniózy je imunitně zprostředkovaná periferní destrukce cirkulujících trombocytů po selhání ledvin a/nebo jater, protože ve studii Cortese et al. (2011) byly prokázány antitrombocytární protilátky u psů s leishmaniózou (Terrazzano et al. 2006; Cortese et al. 2011). Kromě toho může být úbytek trombocytů spojen s hyperkoagulací nebo vaskulitidou. Trombocytopenie u psů s leishmaniózou však může být také způsobena potlačenou tvorbou krevních destiček v kostní dřeni. U psů s normální koncentrací trombocytů byla popsána snížená funkce trombocytů (Abid et al. 2015).

Na úplném začátku léčby na pracovišti 1 a na pracovišti 3 v lednu 2024 byla u Lexe epistaxe. Mylonakis et al. (2006) ve své studii uvádí, že přibližně 10-15 % psů s leishmaniózou může vykazovat epistaxi samotnou nebo v kombinaci s jinými klinickými příznaky (Mylonakis et al. 2006). Četnostmi příznaků se zabývá studie Petanides et al. (2008) která popisuje, že k rozvoji epistaxe u leishmaniózy psů nevede vždy pouze jediná abnormalita, ale naznačují multifaktoriální mechanismus kombinující zhoršenou funkci krevních destiček, zvýšenou viskozitu séra připisovanou hyperglobulinémií a ulceraci nosní sliznice (Petanides et al. 2008).

Může být přítomna také neutrofilie způsobená systémovou zánětlivou reakcí, která je zvláště výrazná v případech s ulcerózními kožními lézemi a sekundární bakteriální infekcí (Kiral et al. 2004; Nicolato et al. 2013; Maia & Campino 2018). U Lexe jsme zvýšené hladiny

neutrofilů nevyzpozorovali, všechny testy byly v referenčním rozmezí, některé se pouze výrazně přiblížily na horní hranici. Naopak kvantitativní nebo kvalitativní morfologické změny v ostatních populacích leukocytů jsou méně časté, ačkoli lymfopenie, lymfocytóza, eozinofilie a leukopenie jsou příležitostně také popisovány (Alvar et al. 2004; Nicolato et al. 2013). V našem případě nebyly naměřeny žádné radikální změny v hodnotách těchto čtyř parametrů.

Leishmanie způsobují u psů zánětlivá onemocnění. Zánět spouští v těle psa imunitní reakce, které zahrnují produkci bílkovin jako odpověď na infekci leishmaniózy, což u psa způsobuje hyperproteinémii. Elektroforéza bílkovin v séru umožňuje posoudit a monitorovat tyto mechanismy a velmi brzy může odhalit abnormality v průběhu onemocnění (Manzillo et al. 2013). Ve studii Proverbio et al. (2014) bylo prokázáno, že zvýšení celkových bílkovin koreluje se závažností klinického skóre (Proverbio et al. 2014). Graf 3 potvrzuje hyperproteinémii, u Lexe se ani v jednom měření nepohybovala hodnota celkové bílkoviny v referenčním rozmezí. K referenčnímu rozmezí se hodnota nejvíce přiblížila v lednu 2023, po léčbě první kúrou Milteforanu, poté hodnoty opět rostly. Milteforan tedy účinně potlačoval infekci leishmaniózou a snižoval zánět v těle psa, a tudíž měl vliv i na produkci bílkovin

U psů s leishmaniózou často bývají kromě celkové bílkoviny zvýšené také celkové globuliny (Almeida et al. 2005; Solano-Gallego et al. 2009; Paltrinieri et al. 2010; Ribeiro et al. 2013; Maia & Campino 2018). Na grafu 8 je jasně vidět hypergamaglobulinémie, u které vždy hladina gamaglobulinů měsíc po léčbě klesala. Naopak alfa globuliny a beta globuliny nebyly tak výrazně zvýšené, křivka obou hladin globulinů se pohybovala lehce nad dolní hranicí v rámci referenčního rozmezí. U alfa globulinů v grafu 6 nebyl zpozorován žádný výkyv mimo referenční hodnoty, ale u beta globulinů v grafu 7 hodnota jednou klesla pod hranici standardních hodnot, a to 30.11.2022. Bylo to v době, kdy pes akorát dokončil po 28 dnech léčbu první kúrou Milteforanu. Během léčby Milteforanem byla koncentrace gamaglobulinů postupně snižována, alfa globuliny a beta globuliny se během léčby dařilo držet ve stabilních hodnotách u dolní hranice standardního rozmezí hodnot.

Jedinou výjimkou je albumin, který se u psů s leishmaniózou naopak snižuje, což dokazuje graf 5. Po léčbě Milteforanem se hladina albuminu dotýkala dolní meze standardních hodnot, jinak postupně zase klesala a byla mimo referenční rozmezí. Hypoalbuminémie může vést ke snížení poměru albuminu a globulinu (A/G) (Almeida et al. 2005; Ribeiro et al. 2013; Maia & Campino 2018). Snížení poměru A/G je tak časté, že jej někteří autoři považují za jeden z nejcitlivějších testů psí leishmaniózy (Almeida et al. 2005). I v našem případě byl na grafu 4 AG poměr snížený, po léčbě se sice Milteforanem dostal zpět do fyziologického rozmezí, ale časem zase klesl zpět pod dolní hranici referenčního rozmezí. Maia & Campino (2018) ve své studii zjistili, že poměr albumin/globulin zůstane nízký u psů s přetrvávajícím glomerulárním poškozením a proteinurií během léčby i po léčbě. (Maia & Campino 2018).

Leishmanióza může vést k nízké hodnotě AG poměru v důsledku ztráty bílkovin z těla močí (proteinurií). Pokles hladiny albuminu v krvi může naznačovat, že pes ztrácí bílkoviny přes ledviny, které jsou nezbytné pro udržení normálních hladin v krvi, což pak může ovlivnit poměr albuminu ke globulinu. Nízká hladina albuminu může být také spojena s poškozením jater. Leishmanióza může ovlivnit funkci jater, což může vést k narušení produkce albuminu, protože játra jsou hlavním místem syntézy této bílkoviny. Pokud pes trpěl ztrátou chuti k jídlu,



jak tomu bylo i v listopadu 2022, mohl mít nedostatečný příjem bílkovin, což se mohlo projevit nízkým celkovým množstvím bílkovin v krvi.

Vyhodnocení biochemických parametrů nám umožnilo vyhodnotit profily jater (AST, ALT, ALP) a ledvin (močovina a kreatinin). Naše studie se shoduje se zvýšením jaterních enzymů jako studie Maia & Campino (2018). Na začátku léčby byla u Lexe postižena pouze játra, ledviny byly po celou dobu pozorování nepoškozeny. Grafy 9, 10 a 11 potvrzují, že hodnoty jaterních enzymů byly před nasazením Milteforanu rapidně zvýšené, dokonce u ALT a AST byly vysoko nad horní hranicí, v průběhu léčby se ale všechny držely již v hodnotách referenčního rozmezí.

Specifická hmotnost moči byla stanovena na refraktometru a sedimenty byly pozorovány pomocí optického mikroskopu. U psů s leishmaniózou se často zvyšuje sérová koncentrace kreatininu a specifická hmotnost v moči naopak klesá. (Solano-Gallego et al. 2009; Paltrinieri et al. 2010; Ribeiro et al. 2013). Dle některých autorů není kreatinin však dostatečně citlivý k odhalení nejranějších stadií renální insuficience (Stockham & Scott 2008). U Lexe byl kreatinin měřen ve všech případech v referenčním rozmezí, za to močovina měla v hodnotách nestabilní výkyvy hodnot a ve dvou obdobích se zvýšila nad hodnotu horní meze referenčního rozmezí. Specifická hmotnost byla skoro ve všech měření v referenčním rozmezí, až na kontrolu 27.6.2023, kdy změřená hustota odpovídala přesně dolní hranici hustoty moči. Dias et al. (2020b) ve své studii uvedl, že většina psů (83,3 %) měla proteinurii jako jeden z prvních příznaků poškození ledvin (Dias et al. 2020b). V této došlo při analýze moči během léčby ke snížení proteinurie z jednoho x na negativní výsledek (viz tabulka), u Lexe tedy výrazně zvýšená bílkovina v moči nebyla. Pes ve vyšetření UP/UC vykazoval nízkou hodnotu. Kromě toho mohou koncentrace močoviny a kreatininu ovlivnit i stavy nesouvisející s funkcí ledvin, jako je stres, hladovění, nepravidelnosti ve výživě, mírná dehydratace, tělesná kondice a horečnatá onemocnění (Paltrinieri et al. 2016).

Jak u většiny léků, tak i u Milteforanu se mohou u psa vyskytnout vedlejší účinky. Někteří psi mohou po podání Milteforanu trpět gastrointestinálními potížemi jako zvracení nebo průjem. Tyto problémy obvykle ustupují s pokračujícím podáváním léku. Během léčby Milteforanem mohou mít psi také dočasnou ztrátu chuti k jídlu, což může vést k mírné ztrátě hmotnosti. V případě Lexe se stav po zahájení léčby první kúrou Milteforanu zpočátku velice zhoršil, což naznačovalo možné nežádoucí účinky léčby. Postupně však došlo k stabilizaci a zlepšení některých klinických příznaků, jako jsou eroze na pyscích, zvětšené mízní uzliny a dermatologické problémy. Avšak při nasazení druhé kúry Milteforanu se objevily opětovně některé klinické příznaky, avšak s mnohem mírnějším projevem. Řešení pridružených problémů v návaznosti s leishmaniózou a velké výkyvy ve zdraví psa signalizují složitost léčby této nemoci a nutnost individuálního přístupu k pacientovi.

## 6 Závěr

Tato studie poskytuje důkladný přehled informací o parazitickém prvku *Leishmania* a zároveň pohled na léčbu psa Lexe postiženého leishmaniózou. Zjištění naznačují složitost terapeutického procesu a potřebu individuálního přístupu k pacientům. Léčba Lexe vyžadovala systematické sledování jeho stavu a nutnou adaptaci léčebného režimu podle aktuálních klinických projevů. Aplikace Milteforanu a Allopurinolu se ukázala pro léčbu psa jako bezpečná a účinná. Nezbytnou součástí léčby bylo sledování biochemických a hematologických parametrů, které umožnily posouzení účinnosti terapie a detekci možných komplikací. Výsledky této analýzy ukazují na variabilitu klinických projevů a biochemických změn v závislosti na individuální reakci zvířete na infekci. Přestože se objevily komplikace a recidivy klinických příznaků, systematickým přístupem bylo dosaženo stabilizace a zlepšení celkového stavu psa.

## 7 Literatura

- Abid M, Kalbantner K, Mischke R. 2015. Platelet function in dogs with bacterial infections and leishmaniasis. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* **128**:289–296.
- Alanazi AD, Puschendorf R, Alyousif MS, Al-Khalifa MS, Alharbi SA, Al-Shehri ZS, Said AE, Alanazi IO, Al-Mohammed HI, Alraey YA. 2019. Molecular detection of *Leishmania* spp. in skin and blood of stray dogs from endemic areas of cutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia. *Iranian Journal of Parasitology* **14**:231–239.
- Alemayehu B, Alemayehu M. 2017. Leishmaniasis: A review on parasite, vector and reservoir host. *Health Science Journal* **11** (e519) DOI: 10.21767/1791-809X.1000519.
- Almeida MA, Jesus EE, Sousa-Atta ML, Alves LC, Berne ME, Atta AM. 2005. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary Parasitology* **127**:227–232.
- Alvar J, Cañavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. 2004. Canine leishmaniasis. *Advances in parasitology* **57**:1-88.
- Antinori S, Cascio A, Parravicini C, Bianchi R, Corbellino M. 2008. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *The Lancet Infectious Diseases* **8**:191-199.
- Ashford RW. 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology* **14**:523–532.
- Ayele A, Seyoum Z. 2016. Review on canine leishmaniasis, etiology, clinical sign, pathogenesis, treatment and control methods. *Global Veterinaria* **17**:343–352.
- Baneth G, Aroch I. 2008. Canine Leishmaniasis: A diagnostic and clinical challenge. *The Veterinary Journal* **175**:14–15.
- Baneth G, Shaw SE. 2002. Chemotherapy of Canine Leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* **106**:315–324.
- Baneth G, Yasur-Landau D, Gilad M, Nachum-Biala Y. 2017. Canine leishmaniosis caused by *Leishmania major* and *Leishmania tropica*: comparative findings and serology. *Parasites & Vectors* **10** (e113) DOI: 10.1186/s13071-017-2050-7.
- Bates PA. 2007. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomines and flies. *International Journal for Parasitology* **37**:1097–1106.
- Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BWL, Silva ESS, Struchiner CJ. 2013. Factors associated with visceral Leishmaniasis in the Americas: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **7** (e2182) DOI: 10.1371/journal.pntd.0002182.
- Boggiatto PM, Gibson-Corley KN, Metz K, Gallup JM, Hostetter JM, Mullin K, Petersen CA. 2011. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **5** (e1019) DOI: 10.1371/journal.pntd.0001019.

- Bonfanti U, Zini E, Minetti E, Zatelli A. 2004. Free light-chain proteinuria and normal renal histopathology and function in 11 dogs exposed to *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, and *Babesia canis*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **18**:618–624.
- Bongiorno G, Habluetzel A, Khoury C, Maroli M. 2003. Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica* **88**:109–116.
- Borja-Cabrera GP, Pontes NNC, da Silva VO, de Souza EP, Santos WR, Gomez EM, Luz KG, Palatnik M, de Sousa CBP. 2002. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). *Vaccine* **20**:3277–3284.
- Brianti E, Napoli E, Gaglio G, Falsone L, Giannetto S, Basano FS, Nazzari R, Latrofa MS, Annoscia G, Tarallo VD, et al. 2016. Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniasis in a Highly Endemic Area. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10** (e0004987) DOI: 10.1371/journal.pntd.0004987.
- Calier. 2021. Treatment of leishmaniasis: everything you need to know. Calier. Available from <https://www.calier.com/en/blog/treatment-leishmaniasis-everything-you-need-know> (accessed December 2023).
- Carreira JCA, Magalhes MAF, da Silva AVM. 2014. The geospatial approach on eco-epidemiological studies of leishmaniasis. Pages 125-145 in Carreira JCA editor. *Leishmaniasis – trends in epidemiology, diagnosis and treatment*. IntechOpen, London, United Kingdom.
- Ceva. 2019. Lista de Produtos – Leish-Tec. Available from: <https://www.ceva.com.br/Produtos/Lista-de-Produtos/LEISH-TEC> (accessed December 2023).
- CIB Margarita Salas. 2023. EMA approval for the canine leishmaniasis vaccine developed by Vicente Larraga's group at CIB Margarita Salas. Available from: <https://cib.csic.es/news/research/ema-approval-canine-leishmaniasis-vaccine-developed-vicente-larragas-group-cib> (accessed December 2023).
- Coelho EAF, Christodoulides M. 2023. Vaccines for Canine Leishmaniasis. Pages 281-306 in Christodoulides M editor. *Vaccines for Neglected Pathogens: Strategies, Achievements and Challenges*. Springer, Cham, Switzerland.
- Corpas-López V, Merino-Espinosa G, Acedo-Sánchez C, Díaz-Sáez V, Morillas-Márquez F, Martín-Sánchez J. 2016. Hair Parasite Load as a New Biomarker for Monitoring Treatment Response in Canine Leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* **223**:20–25.
- Cortese L, Terrazzano G, Piantedosi D, Sica M, Prisco M, Ruggiero G, Ciaramella P. 2011. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally coinfecting by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *Veterinary Journal* **188**:118–121.

- Cotrina JF, Iniesta V, Monroy I, Baz V, Hugnet C, Marañón F, Fabra M, Gómez-Nieto LC, Alonso C. 2018. A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine* **36**:1972-1982.
- Courtenay O, Carson C, Calvo-Bado L, Garcez LM, Quinnell RJ. 2014. Heterogeneities in *Leishmania infantum* Infection: Using Skin Parasite Burdens to Identify Highly Infectious Dogs. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **8** (e2583) DOI: 10.1371/journal.pntd.0002583.
- Dantas-Torres F. 2007. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Veterinary Parasitology* **149**:139–146.
- de Freitas E, Melo MN, da Costa-Val AP, Michalick MS. 2006. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology* **137**:159-167.
- Desjeux P. 2004. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **27**:305–318.
- Dias ÁFLR, Ayres EDCBS, de Oliveira Martins DT, Maruyama FH, de Oliveira RG, de Carvalho MR, Almeida ADBPFD, Teixeira ALDS, Mendonça AJ, Sousa VRF. 2020a. Comparative Study of the Use of Miltefosine, Miltefosine plus Allopurinol, and Allopurinol in Dogs with Visceral Leishmaniasis. *Experimenta Parasitology* **217** (e107947) DOI: 10.1016/j.exppara.2020.107947.
- Dias ÁFLR, Ayres EDCBS, Maruyama FH, Monteiro BRG, de Freitas MS, de Almeida ADBPF, Mendonça AJ, Sousa VRF. 2020b. Monitoring of serum and urinary biomarkers during treatment of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary World* **13**:1620-1626.
- Diniz SA, Mello MS, Borges AM, Bueno R, Reis BP, Tafuri WL, Nascimento EF, Santos RL. 2005. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology* **42**:650-658.
- Dorlo TPC, Balasegaram M, Beijnen JH, de Vries PJ. 2012. Miltefosine: A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **67**:2576–2597.
- Dostálová A, Volf P. 2012. *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors* **5** (e276) DOI: 10.1186/1756-3305-5-276.
- Dubey JP, Rosypal AC, Pierce V, Scheinberg SN, Lindsay DS. 2005. Placentitis associated with leishmaniasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **227**:1266-1269.
- Elanco. 2022. Seresto™ for dogs. Available from <https://mypetandi.elanco.com/au/our-products/seresto/seresto-dogs> (accessed December 2023).
- European Medicines Agency (EMA). 2011. CaniLeish: summary for the public. Available from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/002232/WC500104955.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/veterinary/002232/WC500104955.pdf) (accessed December 2023).

- European Medicines Agency (EMA). 2016a. LetiFend: summary of product characteristics. Available from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/003865/WC500207742.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/veterinary/003865/WC500207742.pdf) (accessed December 2023).
- European Medicines Agency (EMA). 2016b. Letifend. European Medicines Agency. Available from [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/letifend-epar-summary-public\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/letifend-epar-summary-public_en.pdf) (accessed November 2023).
- European Medicines Agency (EMA). 2023. Veterinary Medicines Highlights 2022. Available from [https://www.ema.europa.eu/system/files/documents/report/veterinary\\_medicines\\_highlights\\_2022\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/system/files/documents/report/veterinary_medicines_highlights_2022_en.pdf) (accessed December 2023).
- Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC). 2022. Jak fungují vakcíny. Available from <https://vaccination-info.europa.eu/cs/o-vakcinach/jak-funguji-vakciny> (accessed December 2023).
- Fernandes CB, Junior JTM, de Jesus C, Souza BMPS, Larangeira DF, Fraga DBM, Veras PST, Barrouin-Melo SM. 2014. Comparison of two commercial vaccines against visceral Leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism and parasite transmission by xenodiagnosis. *Vaccine* **32**:1287-1295.
- Fernandez-Gallego A, FeoBernabe L, Dalmau A, Esteban-Saltiveri D, Font A, Leiva M, Ortúñez-Navarro A, Peña MT, Tabar MD, Real-Sampietro L, Saló F, Lloret A, Bardagi M. 2020. Feline Leishmaniosis: Diagnosis, Treatment and Outcome in 16 Cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* **22**:993–1007.
- Ferroglio E, Poggi M, Trisciuglio A. 2008. Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. *Zoonoses and Public Health* **55**:145–148.
- Fontes JLM, Mesquita BR, Brito R, Gomes JCS, de Melo CVB, dos Santos WLC. 2021. Anti-*Leishmania infantum* antibody-producing plasma cells in the spleen in canine visceral Leishmaniasis. *Pathogens* **10** (e1635) DOI: 10.3390/pathogens10121635.
- Gharbi M, Mhadhbi M, Rejeb A, Jaouadi K, Rouatbi M, Darghouth MA. 2015. Leishmaniosis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. *Revue Scientifique et Technique* **34**:613-26.
- Giannuzzi AP, Ricciardi M, De Simone A, Gernone F. 2017. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *The Journal of Small Animal Practice* **58**:125-138.
- Gonçalves G, Campos MP, Gonçalves AS, Medeiros LCS, Figueiredo FB. 2021. Increased *Leishmania infantum* resistance to miltefosine and amphotericin B after treatment of a dog with miltefosine and allopurinol. *Parasites & Vectors* **14** (e599) DOI: 10.1186/s13071-021-05100-x.
- Gradoni L, Gramiccia M. 2008. OIE Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). Office International des Epizooties, Paris, France.

- Gradoni L. 2015. Canine *Leishmania* vaccines: Still a long way to go. *Veterinary Parasitology* **208**:94-100.
- Gramiccia M, Gradoni L. 2005. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology* **35**:1169-1180.
- Gramiccia M, Scalone A, Di Muccio T, Orsini S, Fiorentino E, Gradoni L. 2013. The burden of visceral leishmaniasis in Italy from 1982 to 2012: A retrospective analysis of the multi-annual epidemic that occurred from 1989 to 2009. *Euro surveillance* **18** (e20535) DOI: 10.2807/1560-7917.ES2013.18.29.20535.
- Gramiccia M. 2011. Recent advances in leishmaniasis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Veterinary Parasitology* **181**:23–30.
- Grimaldi G Jr, Teva A, dos-Santos CB, Santos FN, Pinto IS, Fux B, Leite GR, Falqueto A. 2017. Field trial of efficacy of the Leish-tec® vaccine against canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in an endemic area with high transmission rates. *PloS One* **12** (e0185438) DOI: 10.1371/journal.pone.0185438.
- Heidarpour M, Soltani S, Mohri M, Khoshnegah J. 2012. Canine visceral leishmaniasis: Relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status. *Parasitology Research* **111**:1491–1496.
- Hernández L, Bolás-Fernández F, Montoya A, Checa R, Dado D, Gálvez R, Serrano DR, Torrado JJ, Otranto D, Latrofa MS, Miró G. 2015. Unresponsiveness of experimental canine leishmaniasis to a new amphotericin B formulation. *Advances in Pharmaceutics* **2015** (e160208) DOI: 10.1155/2015/160208.
- Iatta R, Mendoza-Roldan JA, Latrofa MS, Cascio A, Brianti E, Pombi M, Gabrielli S, Otranto D. 2021. *Leishmania tarentolae* and *Leishmania infantum* in humans, dogs and cats in the Pelagie archipelago, southern Italy. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **15** (e0009817). DOI: 10.1371/journal.pntd.0009817.
- Jain K, Jain NK. 2015. Vaccines for visceral leishmaniasis: A review. *Journal of immunological methods* **422**:1-12.
- Kasabalis D, Chatzis MK, Apostolidis K, Petanides T, Athanasiou LV, Xenoulis PG, Mataragka A, Ikonomopoulos J, Leontides LS, Saridomichelakis MN. 2020. A randomized, blinded, controlled clinical trial comparing the efficacy of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination with the efficacy of meglumine antimoniate-allopurinol combination for the treatment of canine leishmaniasis due to *leishmania infantum*. *Experimental Parasitology* **214** (e107903) DOI: 10.1016/j.exppara.2020.107903.
- Killick-Kendrick R. 1999. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology* **17**:279–289.
- Kiral FK, Seyrek K, Pasa S, Ertabaklar H, Ünsal C. 2004. Some haematological, biochemical and electrophoretic findings in dogs with visceral leishmaniasis. *Revue de Medecine Veterinaire* **155**:226–229.



- Kost WO, Pereira SA, Figueiredo FB, Mendes Junior AAV, Madeira MDF, Miranda LFC, de Oliveira RVC, Ferreira LC, Morgado FN, Menezes RC. 2021. Frequency of detection and load of amastigotes in the pancreas of *Leishmania infantum* – seropositive dogs: Clinical signs and histological changes. *Parasites & Vectors* **14** (e321) DOI: 10.1186/s13071-021-04813-3.
- Koutinas AF, Koutinas CK. 2014. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Veterinary Pathology* **51**:527-538. DOI: 10.1177/0300985814521248.
- Lavitschka CO, Ceretti W Jr, Marrelli MT. 2018. Occurrences of phlebotomine sand flies (*Diptera: Psychodidae*) potentially associated with leishmaniasis transmission in urban parks in the City of São Paulo, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* **34**:151–153.
- LeishVet. 2018. Leishmaniose canina e felina. LeishVet, Madrid, Španělsko. Available from <http://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/09/PO-Guidelines.pdf> (accessed December 2023).
- Lima IS, Solcá MS, Tafuri WL, de Freitas LAR, dos-Santos WLC. 2019. Assessment of histological liver alterations in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Parasites & Vectors* **12** (e487) DOI:10.1186/s13071-019-3723-1.
- Lima WG, Michalick MSM, de Melo MN, Tafuri WL, Tafuri WL. 2004. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta tropica* **92**:43-53.
- Luna R, Ferrante M, Severino L, Ambrosio R, Piantedosi D, Gradoni L, Lucisano A, Persechino A. 2000. Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis-associated anaemia. *Journal of Comparative Pathology* **122**:213–216.
- Maia C, Campino L. 2012. Cytokine and phenotypic cell profiles of *Leishmania infantum* infection in the dog. *Journal of Tropical Medicine* **2012** (e541571) DOI: 10.1155/2012/541571.
- Maia C, Campino L. 2018. Biomarkers associated with *Leishmania infantum* exposure, infection, and disease in dogs. *Frontiers in Cellular Infection Microbiology* **8** (e302) DOI: 10.3389/fcimb.2018.00302.
- Maia C, Cardoso L. 2015. Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling. *Veterinary parasitology* **213**:2-11.
- Manna L, Corso R, Galiero G, Cerrone A, Muzj P, Gravino AE. 2015. Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasites & Vectors* **8** (e289) DOI: 10.1186/s13071-015-0896-0.
- Manna L, Reale S, Vitale F, Picillo E, Pavone LM, Gravino AE. 2008. Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Veterinary Journal* **177**:279-282.

- Manna L, Vitale F, Reale S, Picillo E, Neglia G, Vescio F, Gravino AE. 2009. Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. *Veterinary Journal* **182**:441–445.
- Manzillo VF, Di Muccio T, Cappiello S, Scalone A, Papparcone R, Fiorentino E, Gizzarelli M, Gramiccia M, Gradoni L, Oliva G. 2013. Prospective study on the incidence and progression of clinical signs in naïve dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **7** (e2225) DOI: 10.1371/journal.pntd.0002225.
- Manzillo VF, Restucci B, Pagano A, Gradoni L, Oliva G. 2006. Pathological changes in the bone marrow of dogs with leishmaniosis. *Veterinary Record* **158**:690–694.
- Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. 2012. Phlebotomines and flies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology* **27**:123–147.
- Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, Crotti A, Lubas G, Paltrinieri S, Roura X, Zini E, Zatelli A. 2010. Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **236**:1200-1206.
- Maroli M, Mizzoni V, Siragusa C, D'Orazi A, Gradoni L. 2001. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Medical and Veterinary Entomology* **15**:358–363.
- Maroli M, Rossi L, Baldelli R, Capelli G, Ferroglio E, Genchi C, Gramiccia M, Mortarino, Pietrobelli M, Gradoni L. 2008. The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Tropical Medicine & International Health* **13**:256–264.
- Martínez V, Quilez J, Sanchez A, Roura X, Francino O, Altet L. 2011. Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasites & Vectors* **4** (e57) DOI: 10.1186/1756-3305-4-57.
- Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, Cerón JJ. 2002. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record* **150**:241–244.
- Martín-Sánchez J, Morales-Yuste M, Acedo-Sánchez C, Barón S, Díaz V, Morillas-Márquez F. 2009. Canine leishmaniasis in Southeastern Spain. *Emerging Infectious Diseases* **15**:795–798.
- Masucci M, de Majo M, Contarino RB, Borruto G, Vitale F, Pennisi MG. 2003. Canine leishmaniasis in the newborn puppy. *Veterinary Research Communications* **27**:771–774.
- Mettler M, Grimm F, Capelli G, Camp H, Deplazes P. 2005. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. *Journal of clinical microbiology* **43**:5515-5519.
- Michalsky ÉM, Rocha MF, da Rocha Lima ACVM, França-Silva JC, Pires MQ, Oliveira FS, Pacheco RS, dos Santos LS, Barata RA, Romanha ÁJ, Fortes-Dias CL, Dias ES. 2007.

- Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sandflies. *Veterinary Parasitology* **147**:67–76.
- Michel G, Pomares Ch, Ferrua B, Marty P. 2011. Importance of world wide asymptomatic carriers of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in human. *Acta Tropica* **119**:69–75.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 2014. Suspensão da licença de fabricação e comercialização do produto Leishmune®. Available from <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/arquivos/nota-tecnica-dfip-38-14-leishmune.pdf/view> (accessed December 2023).
- Miró G, Gálvez R, Mateo M, Montoya A, Descalzo MA, Molina R. 2007. Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Veterinary Parasitology* **143**:375–379.
- Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andrés M, González F, Castillo JA, Lucientes J, Alvar J. 1994. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **88**:491–493.
- Molina R, Miró G, Gálvez R, Nieto J, Descalzo MA. 2006. Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Veterinary Record* **159**:206–209.
- Morales-Yuste M, Martín-Sánchez J, Corpas-López V. 2022. Canine leishmaniasis: Update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Sciences* **9** (e387) DOI: 10.3390/vetsci9080387.
- Moreno J, Vouldoukis I, Martin V, McGahie D, Cuisinier AM, Gueguen S. 2012. Use of a LIESP/QA-21 vaccine (CaniLeish) stimulates an appropriate Th1-dominated cell-mediated immune response in dogs. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **6** (e1683) DOI: 10.1371/journal.pntd.0001683.
- Morillas-Marquez F, Martin-Sanchez J, Acedo-Sanchez C, Pineda JA, Macias J, Sanjuan-Garcia J. 2002. *Leishmania infantum* (Protozoa, Kinetoplastida): transmission from infected patients to experimental animal under conditions that simulate needle-sharing. *Experimental parasitology* **100**:71-74.
- Mylonakis ME, Rallis TS, Koutinas AF, Leontides L, Patsikas M, Florou M, Papadopoulos E, Fytianou A. 2006. Clinical signs and clinicopathologic abnormalities in dogs with clinical spirocercosis: 39 cases (1996–2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **228**:1063–1067.
- Naucke TJ, Amelung S, Lorentz S. 2016. First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. *Parasites & Vectors* **9** (e256) DOI: 10.1186/s13071-016-1551-0.
- Naucke TJ, Lorentz, S. 2013. Non-sandfly transmission of canine leishmaniasis. *Tieraerztliche Umschau* **68**:121-125.

- Nery G, Becerra DRD, Borja LS, Magalhães JT, Souza BMP, Franke CR, Veras PST, Larangeira DF, Melo SMB. 2017. Evaluation of *Lutzomyia Longipalpis* parasite infectivity by xenodiagnosis in dogs treated for naturally acquired visceral leishmaniasis. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **37**:701-707.
- Nicolato RC, de Abreu RT, Roatt MB, Aguiar-Soares RDO, Reis LES, Carvalho MG, Carneiro CM, Guinchetti RC, Bouillet LEM, Lemos DS, et al. 2013. Clinical forms of canine visceral leishmaniasis in naturally *Leishmania infantum*-infected dogs and related myelogram and hemogram changes. *PLoS One* **8** (e82947) DOI: 10.1371/journal.pone.0082947.
- Noli C, Auxilia ST. 2005. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary dermatology* **16**:213-232.
- Oliva G, Nieto J, Manzillo VF, Cappiello S, Fiorentino E, di Muccio T, Scalone A, Moreno J, Chicharro C, Carrillo E, Butaud T, Guegand L, Martin V, Cuisinier AM, McGahie D, Gueguen S, Cañavate C, Gradoni L. 2014. A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the *isp/qa-21* vaccine in naïve dogs exposed to two *Leishmania infantum* transmission seasons. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **8** (e3213) DOI: 10.1371/journal.pntd.0003213.
- 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**:1192–1198.
- Oliva G, Scalone A, Foglia Manzillo V, Gramiccia M, Pagano A, Di Muccio T, Gradoni L. 2006. Incidence and timecourse of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *Journal of Clinical Microbiology* **44**:1318-1322.
- Otranto D, Paradies P, Lia RP, Latrofa MS, Testini G, Cantacessi C, Mencke N, Galli G, Capelli G, Stanneck D. 2007. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Veterinary Parasitology* **144**:270–278.
- Owens SD, Oakley DA, Marryott K, Hatchett W, Walton R, Nolan TJ, Newton A, Steurer F, Schantz P, Giger U. 2001. Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English Foxhounds to anemic dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **219**:1076–1083.
- Palatnik-de-Sousa PCB, Barbosa AF, Oliveira SM, Nico D, Bernardo RR, Santos WR, Rodrigues MM, Soares I, Borja-Cabrera GP. 2008. FML vaccine against canine visceral leishmaniasis: from second-generation to synthetic vaccine. *Expert Review of Vaccines* **7**:833-851.
- Paltrinieri S, Gradoni L, Roura X, Zatelli A, Zini E. 2016. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology* **45**:552-578.

- 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**:1184-1191.
- Pangrazio KK, Costa EA, Amarilla SP, Cino AG, Silva TMA, Pixão TA, Costa LF, Dengues EG, Diaz AAR, Santos R. 2009. Tissue distribution of *Leishmania chagasi* and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and asymptomatic naturally infected bitches. *Veterinary Parasitology* **165**:327–331.
- Papadopoulos E, Angelou A, Diakou A, Halos L, Beugnet F. 2017. Five-month serological monitoring to assess the effectiveness of permethrin/fipronil (FrontlineTri-Act®) spot-on in reducing the transmission of *Leishmania infantum* in dogs. *Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports* **7**:48–53.
- Petanides TA, Koutinas AF, Mylonakis ME, Day MJ, Saridomichelakis MN, Leontides LS, Mischke R, Diniz P, Breitschwerdt EB, Kritsepi M, Garipidou VA, Koutinas CK, Lekkas S. 2008. Factors associated with the occurrence of epistaxis in natural canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine* **22**:866–872.
- Petanides TA, Koutinas AF, Mylonakis ME, Day MJ, Saridomichelakis MN, Leontides LS, Mischke R, Diniz P, Breitschwerdt EB, Kritsepi M, Garipidou VA, Koutinas CK, Lekkas S. 2008. Factors associated with the occurrence of epistaxis in natural canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine* **22**:866-72.
- Petersen C. 2022. Leishmaniosis in dogs. MSD Veterinary Manual. Available from <https://www.msddvetmanual.com/generalized-conditions/leishmaniosis/leishmaniosis-in-dogs> (accessed October 2023).
- Pineda C, Aguilera-Tejero E, Morales MC, Belinchon-Lorenzo S, Gomez-Nieto LC, Garcia P, Martinez-Moreno JM, Rodriguez-Ortiz ME, Lopez I. 2017. Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PLoS One* **12** (e0185981) DOI: 10.1371/journal.pone.0185981.
- Poeppl W, Obwaller AG, Weiler M, Burgmann H, Mooseder G, Lorentz S, Rauchenwald F, Aspöck H, Walochnik J, Naucke TJ. 2013. Emergence of sandflies (*Phlebotominae*) in Austria, a Central European country. *Parasitology Research* **112**:4231-4237.
- Proverbio D, Spada E, de Giorgi GB, Perego R. 2016. Proteinuria reduction after treatment with miltefosine and allopurinol in dogs naturally infected with leishmaniasis. *Veterinary World* **9**:904-908.
- Rallis T, Day MJ, Saridomichelakis MN, Adamama-Moraitou KK, Papazoglou L, Fytianou A, Koutinas AF. 2005. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): A clinicopathological study of 26 cases. *Journal of Comparative Pathology* **132**:145–152.
- Ready PD. 2010. Leishmaniasis emergence in Europe. *Eurosurveillance* **15** (e19505) DOI: <https://doi.org/10.2807/ese.15.10.19505-en>.

- Ready PD. 2013. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annual Review of Entomology* **58**:227-250.
- Regina-Silva S, Feres AMLT, França-Silva JC, Dias ES, Michalsky ÉM, de Andrade HM, Coelho EAF, Ribeiro GM, Fernandes Ap, Machado-Coelho GLL. 2016. Field randomized trial to evaluate the efficacy of the Leish-Tec® vaccine against canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Vaccine* **34**:2233–2239.
- Ribeiro RR, da Silva SM, Fulgêncio Gde O, Michalick MS, Frezard FJ. 2013. Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **22**:373–378.
- Ribeiro RR, Michalick MSM, Da Silva ME, Dos Santos CCP, Frézard FJG, Da Silva SM. 2018. Canine leishmaniasis: An overview of the current status and strategies for control. *BioMed Research International* (e3296893) DOI: 10.1155/2018/3296893.
- Ribeiro RR, Moura EP, Pimentel VM, Sampaio WM, Silva SM, Schettini DA, Alves CF, Melo FA, Tafuri WL, Demicheli C. 2008. Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **52**:2564-2572.
- Roberts CW, McLeod R, Rice DW, Ginger M, Chance ML, Goad LJ. 2003. Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. *Molecular and Biochemical Parasitology* **126**:129–142.
- Rodrigues A, Alexandre-Pires G, Valério-Bolas A, Santos-Mateus D, Rafael-Fernandes M, Pereira MA, Ligeiro D, Nunes T, Alves-Azevedo R, Lopes-Ventura S, et al. 2019. Dog hepatocytes are key effector cells in the liver innate immune response to *Leishmania infantum*. *Parasitology* **146**:753–764.
- Rosypal AC, Gogal RM Jr, Zajac AM, Troy GC, Lindsay DS. 2005a. Flow cytometric analysis of cellular immune responses in dogs experimentally infected with a North American isolate of *Leishmania infantum*. *Veterinary Parasitology* **131**:45–51.
- Rosypal AC, Troy GC, Zajac AM, Frank G, Lindsay DS. 2005b. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *The Journal of Parasitology* **91**:970–972.
- Roura X, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Maroli M, Oliva G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E. 2013. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *Veterinary Journal* **198**:43–47.
- Roze M. 2003. Canine Leishmaniasis: An Update in Diagnosis and Treatment. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*, Marseille, France. Available from <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=8768&meta=generic&catId=18822&id=3850193> (accessed April 2024).
- Saari S, Näreaho A, Nikander S. 2019. *Canine Parasites and Parasitic Diseases*. Academic Press, United Kingdom.

- Saari S, Rasi J, Anttila M. 2000. Leishmaniosis mimicking oral neoplasm in a dog: an unusual manifestation of an unusual disease in Finland, *Acta Veterinaria Scandinavica* **41**:101–104.
- Sabaté D, Llinás J, Homedes J, Sust M, Ferrer L. 2014. Trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Preventive Veterinary Medicine* **115**:56–63.
- Sáez VD, Morillas-Márquez F, Merino-Espinosa G, Corpas-López V, Morales-Yuste M, Pesson B, Barón-López S, Lucientes-Curdi J, Martín-Sánchez J. 2018. *Phlebotomus Langeroni Nitzulescu* (Diptera, Psychodidae) a New Vector for *Leishmania infantum* in Europe. *Parasitology Research* **117**:1105–1113.
- Sandler B. 2021. Role asymptomatických hostitelů v přenosu leishmanióz [BSc. Thesis]. Univerzita Karlova, Praha.
- Sbrana S, Marchetti V, Mancianti F, Guidi G, Bennett D. 2014. Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to *Leishmania* infection. *The Journal of Small Animal Practice* **55**:309-313 DOI: 10.1111/jsap.12204.
- Shaw SE, Langton DA, Hillman TJ. 2009. Canine leishmaniosis in the United Kingdom: A zoonotic disease waiting for a vector? *Veterinary Parasitology* **163**:281-285.
- Shokri A, Fakhari M, Teshnizi SH. 2017. Canine visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica* **165**:76–89.
- Silva FL, Oliveira RG, Silva TMA, Xavier MN, Nascimento EF, Santos RI. 2009. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* **160**:55–59.
- Singh OP, Hasker E, Sacks D, Boelaert M, Sundar S. 2014. Asymptomatic *Leishmania* infection: A new challenge for *Leishmania* control. *Clinical Infectious Diseases* **58**:1424–1429.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miro G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* **165**:1–18.
- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors* **4** (e86) DOI: 10.1186/1756-3305-4-86.
- Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, Iniesta L, Gallego M, Valladares JE, Fisa R, Castillejo S, Alberola J, Ferrer L, Arboix M, Portús M. 2001. *Leishmania infantum*-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Veterinary Parasitology* **96**:265–276.
- Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA.
- Svobodová V, Svoboda M, Friedlaenderová L, Drahotský P, Boháčová E, Baneth G. 2017. Canine leishmaniosis in three consecutive generations of dogs in Czech Republic. *Veterinary parasitology* **237**:122-124.

- Terrazzano G, Cortese L, Piantedosi D, Zappacosta S, Di Loria A, Santoro D, Ruggiero G, Ciaramella P. 2006. Presence of anti-platelet IgM and IgG antibodies in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **110**:331-337.
- Torres M, Bardagí M, Roura X, Zanna G, Ravera I, Ferrer L. 2011. Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Veterinary Journal* **188**:346–351.
- Turchetti AP, Souza TD, Paixão TA, Santos RL. 2014. Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *The Journal of Infection in Developing Countries* **8**:403-407.
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL). 2023. Souhrn údajů o přípravku. CZ Veterinaria, Porriño, Španělsko. Available from <https://www.uskvbl.cz/attachments/spc/0910f7c781769ff0.pdf> (accessed December 2023).
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL). 2021. Souhrn údajů o přípravku. Bayer Animal Health GmbH, Leverkusen, Německo. Available from <https://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/registrace-vlp/seznam-vlp/aktualne-registrovane-vlp/detail-pipravku-vlp?Id=0910f7c78008d688> (accessed December 2023).
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL). 2022. Souhrn údajů o přípravku. Intervet International B.V., Boxmeer, Nizozemsko. Available from <https://www.uskvbl.cz/attachments/spc/0910f7c780092724.doc> (accessed December 2023).
- Velez R, Domenech E, Rodríguez-Cortés A, Barrios D, Tebar S, Fernández-Arévalo A, Aguilar R, Cobaña C, Alberola J, Cairó J, Gállego M. 2020. Evaluation of canine leishmaniosis vaccine CaniLeish® under field conditions in native dog populations from an endemic Mediterranean area – A randomized controlled trial. *Acta Tropica* **5** (e105387) DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105387.
- Velez R, Gállego M. 2020. Commercially approved vaccines for canine leishmaniosis: a review of available data on their safety and efficacy. *Tropical diseases & Internation Health* **25**:540-557.
- World Organisation for Animal Health (WOAH). 2021. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. World Organisation for Animal Health. Available from [https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.01.11\\_LEISHMANIOSIS.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.01.11_LEISHMANIOSIS.pdf) (accessed October 2023).
- Yasur-Landau D, Jaffe CL, David L, Baneth G. 2016. Allopurinol resistance in *Leishmania infantum* from dogs with disease relapse. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10** (e0004341) DOI: 10.1371/journal.pntd.0004341.e0004341.
- Zelinka M, Štellar P, Jelínek F. 2016. Leishmanióza u psa v ČR, klinicko-patologická kasuistika. *Veterinární lékař* **14**:28-43.



## 8 Seznam použitých zkratek a symbolů

/min – (naměřená hodnota) za minutu

°C – stupeň Celsia

AG poměr – poměr albuminu ke globulinům

ALP – Alkalická fosfatáza

ALT – Alaninaminotransferáza

ANA test – Antinuclear Antibody test; test na autonukleární protilátky

AST – Aspartátaminotransferáza

BCS – Body conditions score; skóre tělesné kondice

CRP – C - reaktivní protein

CRT – capillary refill time; kapilární návrat

CT – Computer tomograph; výpočetní tomografie

EIA – Enzyme immunoassay; analytická metoda využívaná ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů

EKG – elektrokardiogram

ELISA – Enzyme-linked immuno sorbent assay

FNAB – Fine needle aspiration biopsy; aspirační biopsie tenkou jehlou

i.m. - intramuskulárně

i.v. - intravenózně

IFT – imunofluorescenční test

Kg – (počet) kilogramů

LE – Leishmania Einheiten („leishmaniové jednotky“); jednotky intenzity zbarvení výsledku

Mg – (počet) miligramů

Min. - minimálně

ml – (počet) mililitrů

Mm – (počet) milimetrů

mmol/l – milimol na litr

MRI – magnetic resonance imaging; magnetická rezonance

Neg. – negativní (hodnota)

Norm. – normální (hodnota)

p.o. – per os; perorálně

pH – pondus hydrogenii; vodíkový exponent; záporný dekadický logaritmus číselné hodnoty koncentrace vodíkových iontů v roztoku

s.c. – subkutánně

syn. - synonymum

tbl. – (počet) tablet

U/l – jednotka koncentrace jaterních enzymů na litr

UP/UC – poměr proteinu a kreatininu v moči

USG – ultrasonografie; sonografické vyšetření

T/l – trilion (neboli tisíc miliard) na litr

g/l – gram na liter

G/L – počet miliard na liter

$\mu\text{mol/l}$  – mikromoly na liter