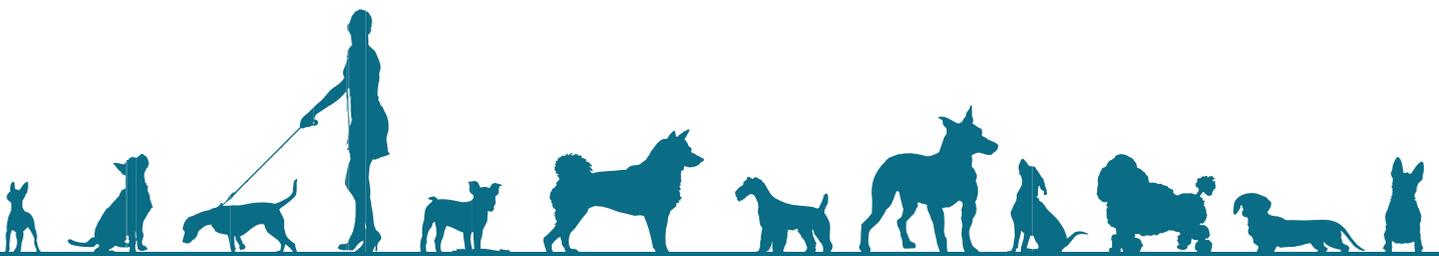




leiSguard®

Monografía de producto

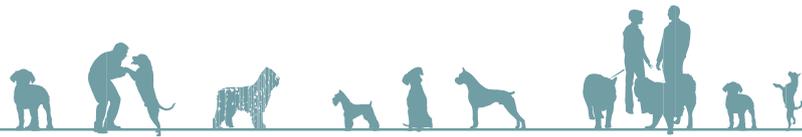




Contenido

I.	INTRODUCCIÓN	3
II.	LEISHMANIOSIS CANINA Y RESPUESTA INMUNITARIA	4
II.1.	Leishmaniosis canina.	4
II.2.	El papel clave del sistema inmunitario en el avance de la enfermedad.	5
II.3.	La importancia de la respuesta inmunitaria innata.	8
II.4.	La enfermedad clínica y la importancia de su detección precoz.	11
III.	LEISGUARD® , UNA NUEVA HERRAMIENTA FRENTE A LA LEISHMANIOSIS CANINA	13
III.1.	¿Qué es Leisguard® ?	13
III.2.	Su principio activo, la domperidona.	14
III.3.	Una dosis y pauta minuciosamente establecida.	15
III.4.	Efecto estimulante de Leisguard® sobre la respuesta inmunitaria innata.	18
III.5.	Efecto estimulante de Leisguard® sobre la respuesta inmunitaria adquirida.	20
III.6.	Leisguard® como estimulante de la actividad leishmanicida de los macrófagos.	22
IV.	EFICACIA CLÍNICA DE LEISGUARD®	24
IV.1.	Leisguard® para el control de la progresión clínica de la leishmaniosis canina. Estudios clínicos con Leisguard® para el control de la progresión clínica de la leishmaniosis canina.	24 25
IV.2.	Leisguard® para la prevención de la leishmaniosis canina. Estudios clínicos con Leisguard® para la prevención de la leishmaniosis.	30 30
V.	¿CÓMO USAR LEISGUARD® EN LA PRÁCTICA?	39
V.1.	El producto.	39
V.2.	Un excelente perfil de seguridad.	41
V.3.	El paciente: La importancia del diagnóstico precoz.	41
V.4.	¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz positivo?	42
V.5.	¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz dudoso?	46
V.6.	¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz negativo?	48
	Zona no endémica (Prevalencia baja <5%)	51
	Zona endémica (Prevalencia media 5-20%)	52
	Zona endémica (Prevalencia alta >20%)	53
VI.	PREGUNTAS MÁS FRECUENTES	57
VII.	FICHA TÉCNICA	63
VIII.	TABLA DE PREVALENCIA DE LEISHMANIOSIS CANINA	71
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

I. Introducción



La leishmaniosis canina es probablemente la enfermedad del perro más importante de los países mediterráneos. Se trata de una enfermedad parasitaria con una alta prevalencia y potencialmente mortal, difícil de diagnosticar y no siempre con un tratamiento eficaz.

A lo largo de los años, el uso creciente de técnicas inmunológicas, genéticas y moleculares ha ampliado notablemente el conocimiento de la leishmaniosis canina, lo que ha derivado en un cambio de paradigma conceptual. Así, en la actualidad se concibe, cada vez más, como una *'enfermedad del sistema inmunitario causada por un parásito'* en lugar de como una simple *'enfermedad parasitaria'*.

Los avances en la investigación de la leishmaniosis canina durante las últimas décadas han puesto de manifiesto que el control de la infección o el progreso de la enfermedad no radica en la patogenicidad del parásito sino en las características de la respuesta inmunitaria que se instaura en el perro tras la infección. Sin embargo, estos conocimientos no habían sido utilizados hasta ahora para el desarrollo de nuevas terapias frente a esta enfermedad.

Leisguard® representa un nuevo enfoque para el tratamiento de la leishmaniosis canina, siendo la primera especialidad farmacéutica destinada a modular la respuesta inmunitaria adquirida del perro infectado orientándola hacia un tipo de respuesta eficaz en el control de la enfermedad. A través de su efecto estimulante sobre la respuesta inmunitaria natural o innata, **Leisguard®**, además ofrece al veterinario clínico una alternativa terapéutica para la prevención eficaz de la enfermedad.

II. Leishmaniosis canina y respuesta inmunitaria

II.1. Leishmaniosis canina

La leishmaniosis canina está causada por diferentes especies de protozoos del género *Leishmania* siendo *Leishmania infantum* la más representativa.

La *Leishmania* se transmite por la picadura/mordedura de dípteros del género *Phlebotomus*, principalmente por *Phlebotomus perniciosus*, aunque también se han descrito otras vías como la transplacentaria, venérea o por transfusiones sanguíneas (*Figura 1*). En la mayor parte de los países mediterráneos endémicos de leishmaniosis canina, este vector suele presentar su período de actividad entre los meses de mayo y noviembre. En los países mediterráneos la presencia de vector es muy elevada, tanto en zonas periurbanas como en zonas rurales, lo cual ha hecho aumentar la prevalencia de la enfermedad hasta las elevadas cifras actuales.

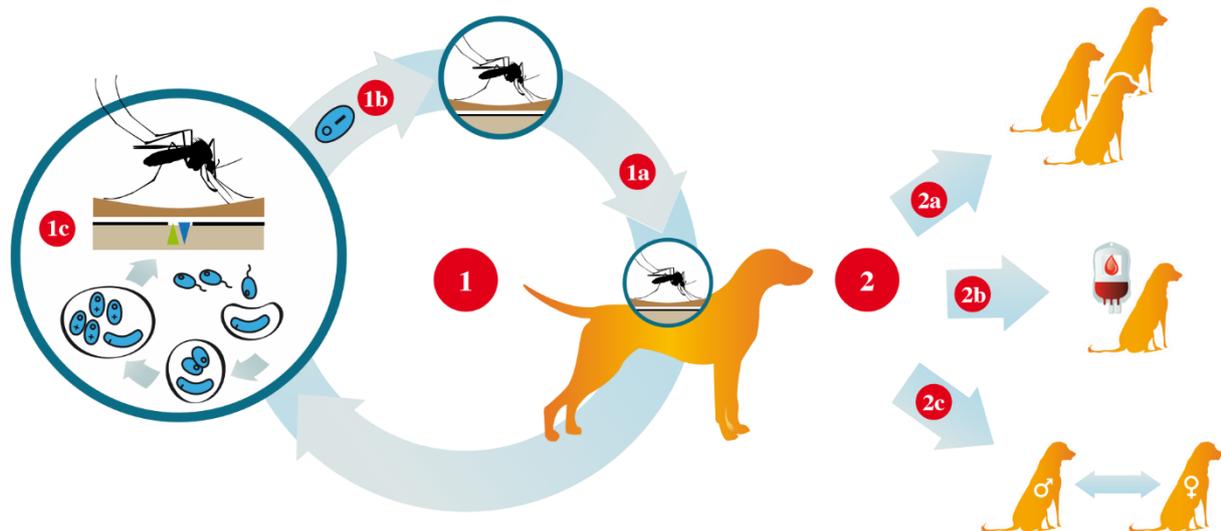
Aunque los datos de prevalencia varían mucho de una zona a otra, los distintos grupos de expertos en leishmaniosis canina coinciden en afirmar que en los últimos años la enfermedad se está extendiendo territorialmente y que su prevalencia en las zonas endémicas está aumentando de forma progresiva (Bourdeau et al., 2011; Paltrinieri et al., 2010, Solano-Gallego et al., 2011).

Un aspecto clave en la comprensión de la enfermedad es la diferencia entre infección y enfermedad. Estudios epidemiológicos llevados a cabo a lo largo de los últimos años demuestran que el porcentaje de perros infectados en las zonas en las que la enfermedad es endémica es muy elevado, pero sólo una parte de ellos son seropositivos y una parte todavía menor desarrolla la enfermedad (Baneth et al., 2008).

II. Leishmaniosis canina y respuesta inmunitaria

Figura 1.

Ciclo de vida de la *Leishmania* y el *Áeotomo* indicando también las rutas de contagio alternativas propuestas (Solano-Gallego et al., 2011).



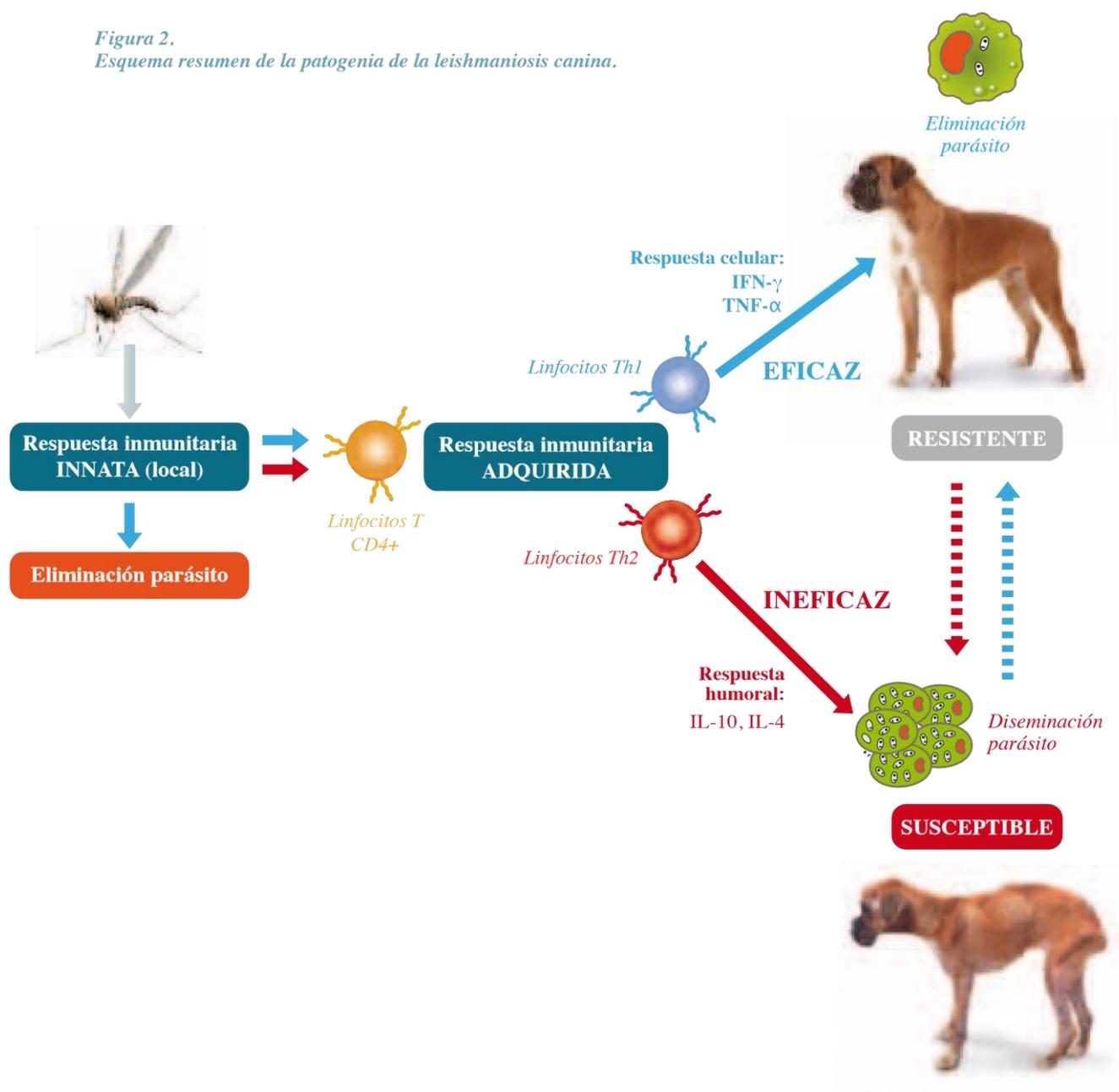
1. Ciclo de vida clásico de la <i>Leishmania infantum</i>	2. Otros métodos inusuales de transmisión
<p>1a Promastigote</p> <p>1b Amastigote</p> <p>1c Diseminación de los parásitos en los órganos a través de los macrófagos infectados.</p>	<p>2a Vertical</p> <p>2b Transfusión de sangre</p> <p>2c Transmisión venérea</p> <p>Otros (no probados): Perro a perro (mordeduras, heridas)</p>

II.2. El papel clave del sistema inmunitario en el avance de la enfermedad

En la actualidad se sabe que una vez que el parásito es inoculado por el *Áeotomo* en la piel del perro, la progresión de la infección puede seguir diferentes caminos (Baneth et al., 2008; Paltrinieri et al., 2010; Solano-Gallego et al., 2011).

Por un lado, en un porcentaje pequeño de los perros infectados se piensa que los mecanismos de inmunidad innata pueden abortar la infección a nivel local, a través de la eliminación de los parásitos por las células fagocitarias que actúan como primera barrera de defensa (*Figura 2*).

Figura 2.
Esquema resumen de la patogenia de la leishmaniosis canina.



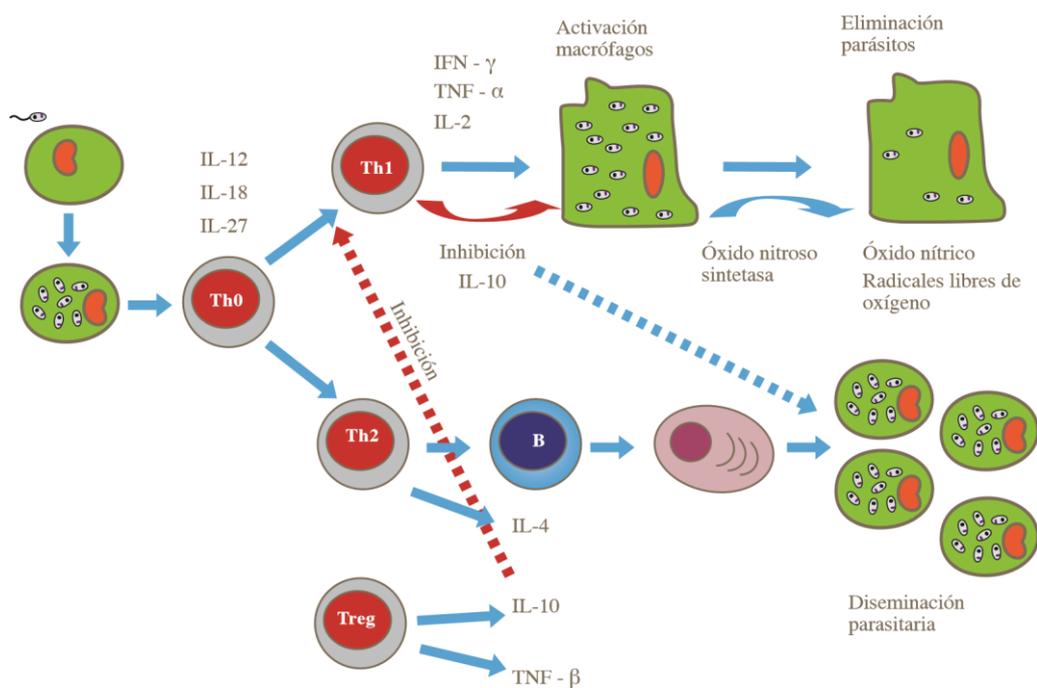
En la mayoría de casos, por el contrario, la infección se extiende localmente y la respuesta innata desencadena y deja paso a una respuesta inmunitaria adquirida y específica. En función del tipo de respuesta inmunitaria adquirida que se establezca, la infección progresa hacia la enfermedad clínica o bien permanece controlada. En los animales que desarrollan una respuesta inmunitaria predominantemente celular (probablemente la mayoría) se produce la activación de los macrófagos y la consecuente destrucción de los parásitos a partir de la síntesis de radicales libres de oxígeno, entre ellos el óxido nítrico. Este tipo de respuesta es la que se conoce como respuesta inmunitaria de tipo Th1.

II. Leishmaniosis canina y respuesta inmunitaria

Por el contrario, en los animales en que la respuesta inmunitaria tiene un perfil predominantemente humoral, con sobreproducción de anticuerpos humorales (IgG1, IgG2), la infección no se controla y la enfermedad progresa. A este otro tipo de respuesta se la conoce como respuesta inmunitaria de tipo Th2.

Los últimos avances en el conocimiento de la patogenia de la leishmaniosis canina han permitido saber que la inmunidad protectora (celular) frente a esta enfermedad está mediada por respuestas de tipo T helper 1 (Th1) que implican la producción de determinadas citoquinas (“hormonas” del sistema inmunitario) capaces de estimular y mantener dicha respuesta en el tiempo. Dichas citoquinas, tales como el IFN- γ , el TNF- α o la IL-2, entre otras, son responsables directas o indirectas de la adecuada activación de los macrófagos. Por el contrario, la inmunidad no protectora (humoral) está mediada por respuestas de tipo T helper 2 (Th2) que implican la producción de citoquinas tales como la IL-10, la IL-4 o el TNF- β , que además de inhibir la respuesta inmunitaria de tipo celular, estimulan la sobreproducción de anticuerpos anti-*Leishmania* inefectivos por parte de las células plasmáticas (*Figura 3*).

Figura 3.
Respuestas Th1 y Th2 y sus interacciones en perros infectados con Leishmania (Baneth et al., 2008).

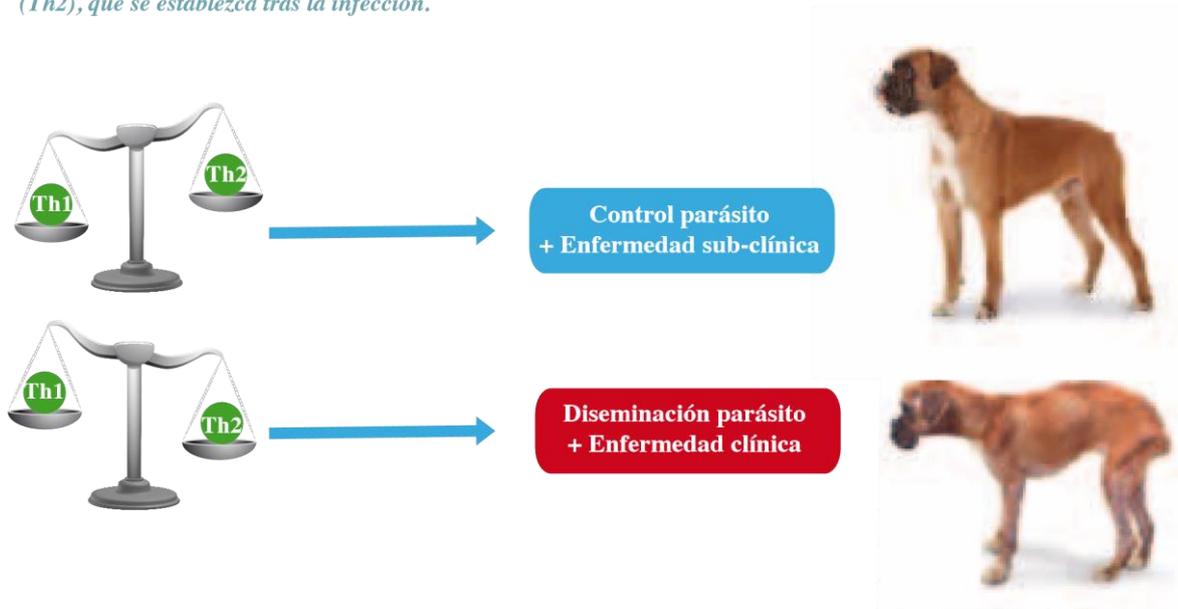




Al contrario que en otras especies animales en las que la respuesta a la infección por *Leishmania* está muy polarizada (Th1 o Th2), en el caso del perro se trata de una respuesta mixta Th1/Th2, donde el control de la enfermedad dependerá del equilibrio que se genere entre ambos tipos (*Figura 4*).

Figura 4.

Evolución clínica en función del equilibrio entre los dos tipos de respuesta inmunitaria, celular (Th1) y humoral (Th2), que se establezca tras la infección.



II.3. La importancia de la respuesta inmunitaria innata

Aunque el control de la leishmaniosis canina depende principalmente de la respuesta inmunitaria adquirida mediada por linfocitos T que se establece después de la primera semana de la infección, actualmente se concede igual importancia a las poblaciones celulares que participan en la respuesta innata, al ser ellas las primeras que entran en contacto con el parásito. Así, se ha descrito que dichas células, además de ejercer un control inicial de la infección, influyen en el direccionamiento de la respuesta adquirida jugando un papel clave para que se establezca la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad (Bonilla-Escobar 2005).

Entre dichas poblaciones celulares se encuentran los monocitos-macrófagos, los neutrófilos y las células 'natural killer' (NK), entre otras. Los neutrófilos son los primeros en llegar a la piel tras la inoculación de los parásitos. Uno o dos días más tarde llegan células NK y los monocitos-macrófagos convirtiéndose, estos últimos, en la población predominante durante la etapa temprana de la infección.

II. Leishmaniosis canina y respuesta inmunitaria

Se ha descrito que parte de los factores que condicionan la susceptibilidad o la resistencia a la leishmaniosis se deben a diferencias funcionales en los monocitosmacrófagos, al ser éstos unas de las poblaciones celulares con más protagonismo en la infección por *Leishmania* (Bonilla-Escobar, 2005).

Los monocitos-macrófagos actúan como 1) células huésped del parásito, 2) células presentadoras de antígenos a los linfocitos T y 3) células efectoras en la destrucción de la *Leishmania*. En este último caso, bien pueden actuar a modo de barrera primaria en el momento de la infección, o bien de forma secundaria, tras ser activadas por las citoquinas potenciadoras de la respuesta Th1 liberadas por los linfocitos T durante la respuesta inmunitaria adquirida. Es por ello que alteraciones en la activación de esta población celular suelen tener como consecuencia el desarrollo clínico de la enfermedad.

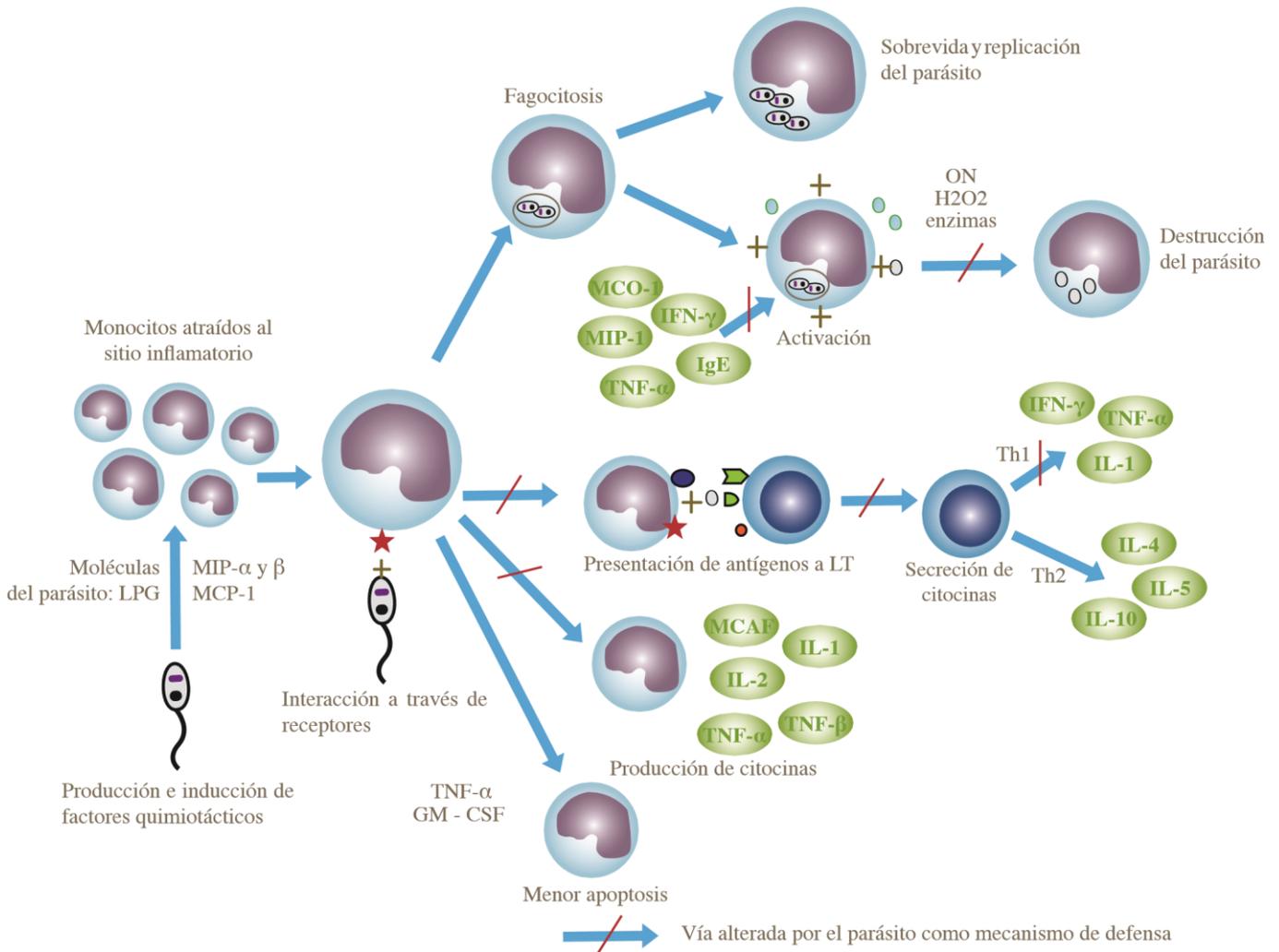
Numerosos estudios también sugieren el papel relevante de los neutrófilos durante la etapa temprana de la infección por *Leishmania* y relacionan su presencia con lesiones menos graves y una menor carga parasitaria (Zandbergen et al., 2002; Rosseau et al., 2001; Lima et al., 1998; Smelt et al., 2000). Al igual que los monocitosmacrófagos, los neutrófilos también requieren estar activados para controlar de manera más eficiente la infección.

Se ha descrito que la *Leishmania*, como mecanismo de defensa, interfiere y altera la activación de ambos tipos celulares impidiendo el adecuado desarrollo de una respuesta protectora (**Figura 5**).

La capacidad de ayudar a estas poblaciones celulares a ganar la batalla que establecen con el parásito y a activarse de forma adecuada es un punto clave a tener en cuenta para el desarrollo de nuevas alternativas de inmunoterapia o inmunoprevención, si se quiere intervenir tempranamente en el curso de la infección.

Figura 5.

Características generales de la interacción entre macrófagos y parásitos de Leishmania. Leishmania induce la llegada de monocitos al sitio de la infección. Al encontrarse, interactúan y el parásito es internalizado. Esta entrada al interior celular puede llevar a la presentación de antígenos, a la producción de citoquinas, a una mayor viabilidad celular y a la supervivencia o la destrucción del parásito, según la inAuencia de diferentes factores (Bonilla-Escobar, 2005).



II. Leishmaniosis canina y respuesta inmunitaria

II.4. La enfermedad clínica y la importancia de su detección precoz

Aunque los factores intrínsecos que hacen que un animal determinado avance hacia el control inmunitario de la enfermedad o hacia la enfermedad clínica aún no se conocen en su totalidad, la genética es, probablemente, el más importante. Hay razas en las que la enfermedad clínica es rarísima (podenco ibicenco) y otras en las que es muy común (rottweiler, boxer, cocker, pastor alemán). Sin embargo, un punto importante a tener en cuenta es que la situación de “resistente” o “susceptible” no es definitiva. Una enfermedad inmunosupresora, un tratamiento farmacológico u otros factores pueden hacer que un animal que durante años ha mantenido la infección bajo control desarrolle signos clínicos de la enfermedad.

En los animales en los que la infección progresa, el periodo de incubación de la enfermedad hasta la aparición de los signos clínicos es muy variable, desde 3 meses hasta 7 años, desencadenándose, a lo largo de dicho período, diversos mecanismos patogénicos. Por una parte la infección se extiende a numerosos órganos y sistemas (bazo, nódulos linfáticos, piel y mucosas, hígado, páncreas, testículos, intestino...), en los cuales se producen procesos inflamatorios granulomatosos. Además, se producen inmunocomplejos circulantes que se depositan en glomérulos renales, úvea, vasos sanguíneos y articulaciones. El depósito de inmunocomplejos es una de las principales causas de los signos clínicos de la enfermedad. Además, en el curso de la enfermedad se producen otros mecanismos patogénicos, tales como la formación de autoanticuerpos o la anemia crónica. Todos estos mecanismos patogénicos son los responsables del pleomórfico cuadro clínico de la enfermedad (*Figura 6*).

Figura 6.

Principales signos clínicos de la leishmaniosis canina:

1. Lesiones cutáneas: dermatitis exfoliativa, ulceraciones cutáneas y en uniones mucocutáneas, nódulos cutáneos.
2. Linfadenopatía (hiperplasia linfática reactiva).
3. Astenia, anorexia, pérdida de peso, atrofia de masa muscular, hipertermia leve.
4. Insuficiencia renal (proteinuria, azotemia).
5. Lesiones oculares (queratitis, uveítis, panoftalmitis, glaucoma).
6. Cojera (artritis, miositis).
7. Epistaxis.
8. Diarrea crónica del intestino grueso (colitis).

En ocasiones, la insuficiencia renal es el único signo aparente (Baneth et al., 2008), por lo que cuando se detecta clínicamente ya es probable que exista un daño irreversible. Es por ello

que, para un adecuado control de la enfermedad, es indispensable detectar los animales infectados en los estadios iniciales de la enfermedad, momento en el cual las probabilidades de éxito de la terapia son mucho mayores.

Tal y como se ha comentado anteriormente, no todos los perros infectados desarrollan la enfermedad de forma clínica. En muchos casos, los perros sin signos clínicos permanecen en este estado durante años y sólo desarrollan la enfermedad clínica si concurren otras circunstancias que comprometan de alguna manera su respuesta inmunitaria celular. Si bien podemos decir que un perro infectado con signos clínicos ha desarrollado una respuesta de tipo Th2 (predominantemente Th2) y otro infectado pero sin signos ha desarrollado una respuesta de tipo Th1 (predominantemente Th1), no es posible por ahora predecir con anterioridad cuál será la respuesta de un animal en concreto, antes de ser infectado. Salvo excepciones, como en el caso del podenco ibicenco, no existen evidencias científicamente demostradas de que la raza, el sexo o edad del animal puedan orientar la respuesta inmunitaria en un sentido u otro.

Tampoco se dispone de ninguna prueba diagnóstica, serológica o de otro tipo, a la que se le pueda atribuir un valor pronóstico que permita discernir qué animales son susceptibles a la enfermedad y cuales se defenderán satisfactoriamente en caso de contacto con el parásito. Por consiguiente, dado que no podemos distinguir de forma prospectiva cual será el comportamiento de cada animal, el veterinario clínico debería concentrar sus esfuerzos en detectar la enfermedad en la fase más temprana posible. Al igual que en cualquier otra enfermedad grave, la detección precoz es la clave del éxito que pueda tener cualquier terapia que se quiera instaurar y en este sentido la leishmaniosis canina no es una excepción.

A pesar de esta evidencia, clásicamente se ha considerado que ante un diagnóstico serológico dudoso o falta de confirmación clínica debe esperarse a ver la evolución del animal en exámenes posteriores, antes de abordar ninguna terapia con los fármacos registrados para esta enfermedad, no exentos de efectos secundarios y posible creación de resistencias, sin la certeza de que durante este tiempo se produzca una proliferación activa de los parásitos. Sin embargo, esta práctica implica un cierto riesgo de que la enfermedad evolucione y cuando se quiera iniciar la terapia el animal se encuentre en un estado avanzado, comprometiendo así el éxito del tratamiento. Tal y como se describe en los siguientes apartados, **Leisguard**[®] ofrece al veterinario una herramienta idónea para el abordaje terapéutico de las fases más tempranas de la enfermedad.

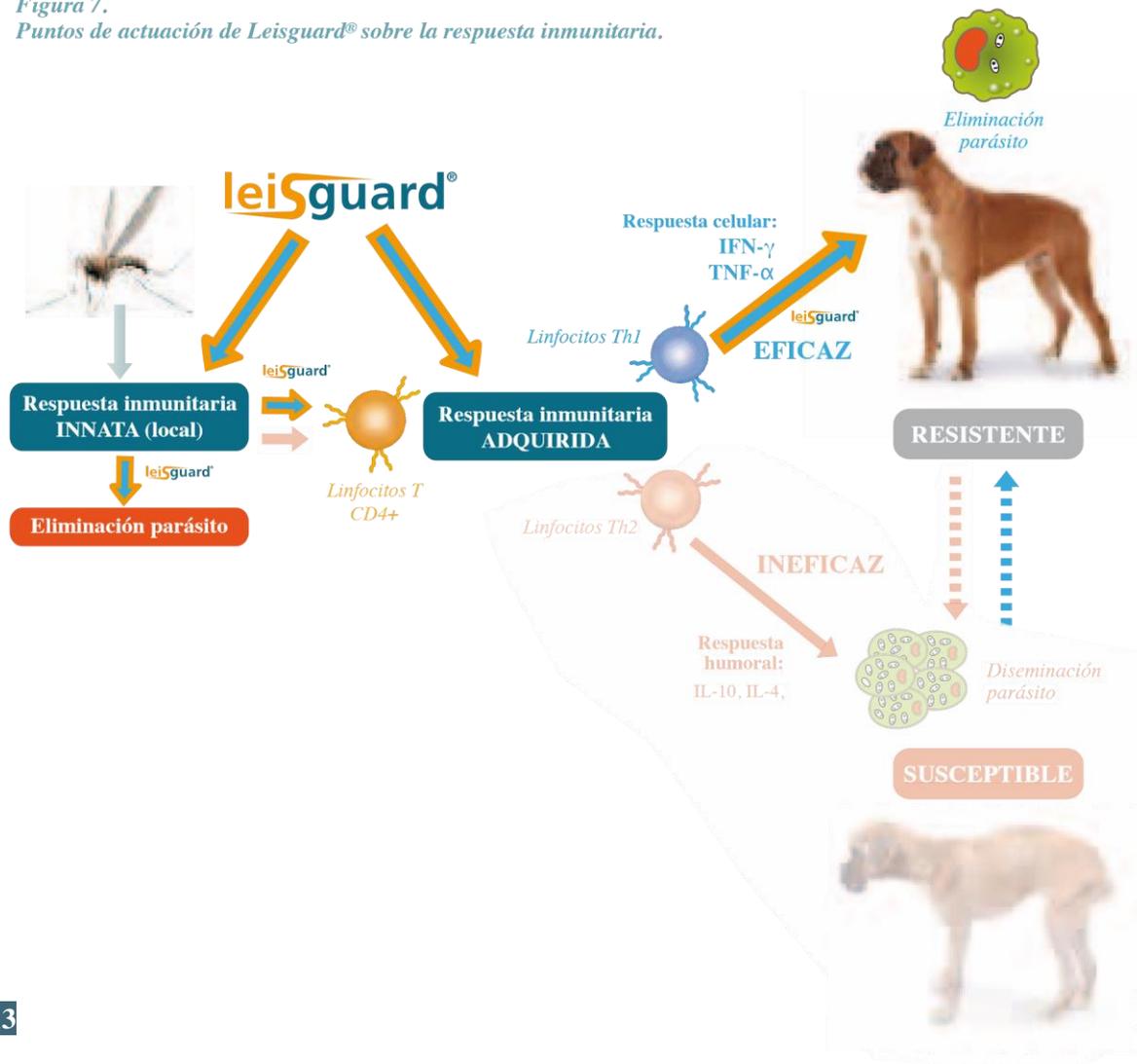
III. Leisguard®, una nueva herramienta frente a la leishmaniosis canina

III.1. ¿Qué es Leisguard®?

Leisguard® es una suspensión oral a base de domperidona indicada para disminuir el riesgo de contraer la leishmaniosis canina en caso de contacto con el agente causal, así como para el control de la progresión clínica de la enfermedad en casos leves o en estadios iniciales de la enfermedad.

Leisguard® actúa sobre el sistema inmunitario del perro, tanto a nivel de la respuesta innata como de la adquirida. En concreto, incrementa el potencial leishmanicida de las poblaciones de células fagocíticas tales como monocitos-macrófagos y neutrófilos, primera línea de defensa frente a la *Leishmania* y elemento clave en la orientación de la respuesta inmunitaria adquirida. A través de su efecto sobre la mayoría de las células del sistema inmunitario, **Leisguard®** contribuye al establecimiento de una respuesta de tipo predominantemente celular, asociada con la resistencia al avance de la enfermedad clínica (**Figura 7**).

Figura 7.
Puntos de actuación de Leisguard® sobre la respuesta inmunitaria.



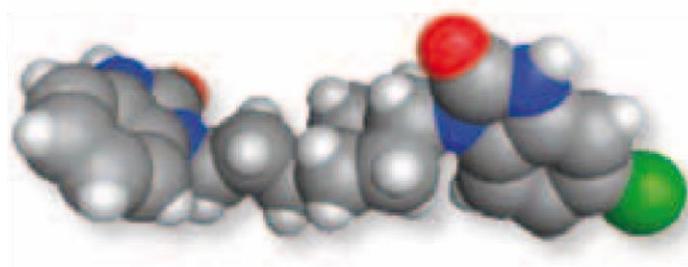


III.2. Su principio activo, la domperidona

El principio activo de **Leisguard**[®] es la domperidona (*Figura 8*), un derivado bencimidazólico que actúa a través del bloqueo específico de los receptores dopaminérgicos D₂ a nivel periférico.

Figura 8.

Estructura química de la domperidona (5-cloro-1-(1-[3-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)propil] piperidin-4-il)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-ona).



A diferencia de otras moléculas que actúan del mismo modo, la domperidona prácticamente no atraviesa la barrera hematoencefálica motivo por el cual no se le atribuyen efectos secundarios de tipo extrapiramidal (Reyntjens et al.,1978; Rooyen et al.,1981; Kohli et al.,1983). Esta característica, junto con los resultados de los estudios toxicológicos llevados a cabo durante el desarrollo de **Leisguard**[®], avalan su amplio margen de seguridad.

La domperidona se ha utilizado ampliamente tanto en humanos como en el perro como agente antiemético y gastrocinético, siendo ambas actividades debidas al bloqueo de los receptores dopaminérgicos D₂ a nivel del centro del vómito integrado en el bulbo raquídeo y a nivel del tracto digestivo superior, respectivamente (Brodgen et al.,1982; Reyntjens et al.,1982; Prakash et al.,1998; Takahashi et al.,1991; Johnson,1992; Barone,1999; Hall y Washabu, 2000).

Menos conocida es su actividad endocrina hiperprolactinérmica derivada del bloqueo de los receptores dopaminérgicos D₂ a nivel de la glándula pituitaria o hipófisis. Dicho bloqueo conlleva la liberación aguda de la prolactina acumulada en la hipófisis lo cual deriva en un pico transitorio de pocas horas de duración en los niveles sanguíneos de esta hormona (Kato et al.,1980; Fujino et al.,1980).

III. Leisguard®, una nueva herramienta frente a la leishmaniosis canina

Numerosos estudios demuestran que la prolactina, además de participar en la regulación hormonal de la función reproductora, también tiene un papel clave en el desarrollo y función del sistema inmunitario, actuando como citoquina. Así, se ha descrito que la prolactina tiene una gran influencia sobre la proliferación y diferenciación de muchas de las células del sistema inmunitario que participan tanto en la respuesta celular como en la humoral, la mayoría de las cuales tienen receptores para prolactina y además la sintetizan o tienen potencial para hacerlo (Swarko Sonta, 1992; Reber, 1993; Vera-Lastra et al., 2002; Chavez Rueda et al., 2005).

En concreto, se ha demostrado que, a través de la modulación de otras citoquinas, la prolactina estimula la respuesta inmunitaria de tipo celular induciendo a las células NK y los linfocitos T a producir mayor cantidad de IFN- γ que, a su vez, estimula la actividad fagocítica y el potencial parasiticida de las células NK, los neutrófilos y los monocitos-macrófagos encargados de eliminar la *Leishmania* (Matera et al., 1997 y 2000; Plocinski et al., 2007). Asimismo, se ha descrito que la prolactina favorece la adecuada presentación de antígeno por parte de los macrófagos y células dendríticas (Matera et al., 2001), un paso fundamental para el establecimiento de una adecuada respuesta inmunitaria adquirida de tipo predominantemente celular, protectora frente a la leishmaniosis.

III.3. Una dosis y pauta minuciosamente establecida

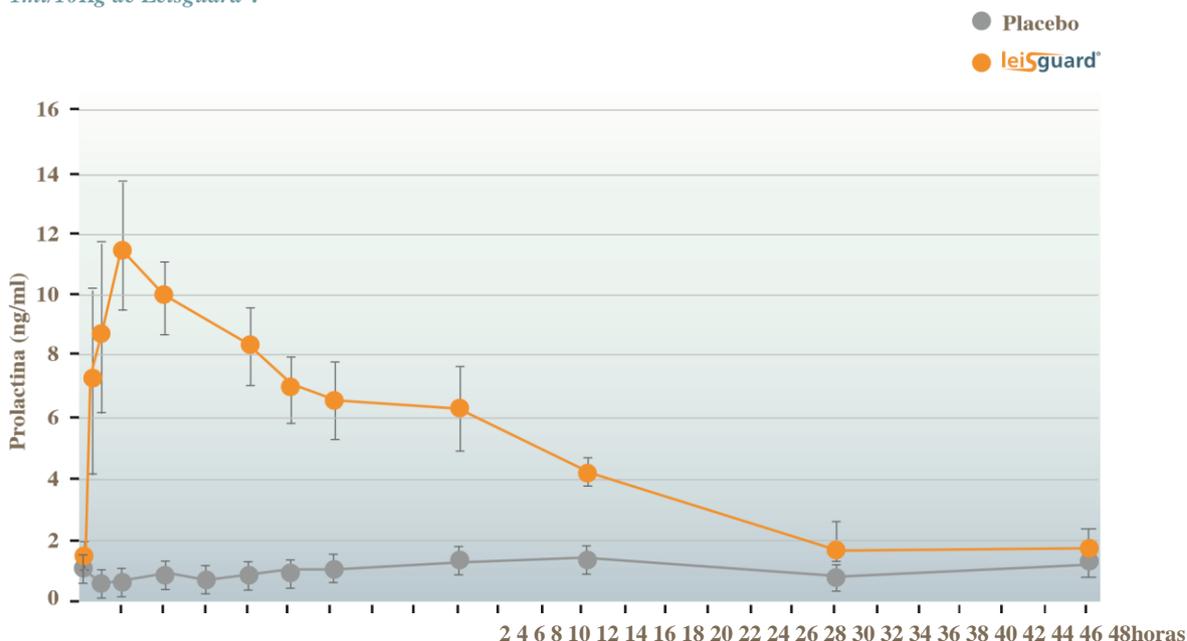
Tanto la dosis como la pauta terapéutica de **Leisguard®** en la especie canina se establecieron minuciosamente con el objetivo de garantizar una máxima eficacia inmunoestimulante de la respuesta celular.

De acuerdo con la bibliografía, dicho efecto no se consigue a partir de un incremento mantenido en el tiempo de los niveles sanguíneos de prolactina sino que, lo que realmente estimula la respuesta inmunitaria es la repetición periódica de picos agudos de esta hormona inducidos por el principio activo de **Leisguard®** (Rovensky et al., 1995, 1996 y 1999).

Los resultados de varios estudios en perro han llevado a concluir que la dosis de **Leisguard®** más adecuada para obtener un incremento significativo de prolactina en sangre corresponde a 1ml/10kg, equivalente a 0.5mg/kg de domperidona. Así, tras la administración oral de **Leisguard®** a dicha dosis se induce un pico de prolactina en sangre cuyos niveles máximos se alcanzan unas dos horas después de la administración del producto y posteriormente disminuyen progresivamente hasta recuperar sus valores basales, transcurridas entre 24 y 36 horas (Figura 9).

Dicho efecto se ha demostrado tanto en machos como en hembras alcanzándose en ambos sexos unos picos de prolactina muy similares a pesar de que las hembras partan de unos valores basales ligeramente más elevados (Sabaté et al., 2005 y 2006a).

Figura 9.
Perfil farmacocinético de los niveles de prolactina sérica (Media ± EE) en perro tras la administración de una dosis de 1ml/10Kg de Leisguard®.

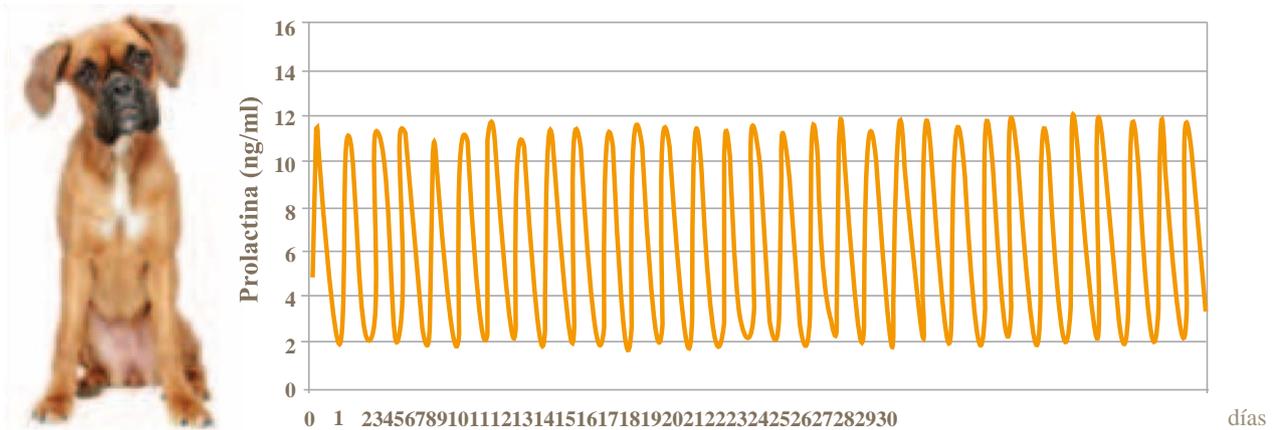


Una de las particularidades de esta dosis es que permite repetir la administración de **Leisguard**® cada 24h sin que se produzca una acumulación de prolactina en sangre. Gracias a ello se mantiene la magnitud de los picos diarios de esta hormona a lo largo del tratamiento, garantizándose así la máxima eficacia inmunestimulante sobre la respuesta celular.

Ello ha sido confirmado en otros estudios cuyos resultados demuestran que tras la administración repetida de **Leisguard**® a 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos: i) los niveles basales de prolactina permanecen estables a lo largo del tratamiento dentro de unos valores fisiológicos, lo cual confirma la ausencia de acumulación, y ii) la magnitud de los picos diarios de prolactina es la misma desde el primer hasta el último día de tratamiento, lo cual demuestra la ausencia de acomodación de la respuesta a la administración repetida del medicamento (Larraga et al., 2007; Sabaté et al., 2006b) (*Figura 10*).

Figura 10.

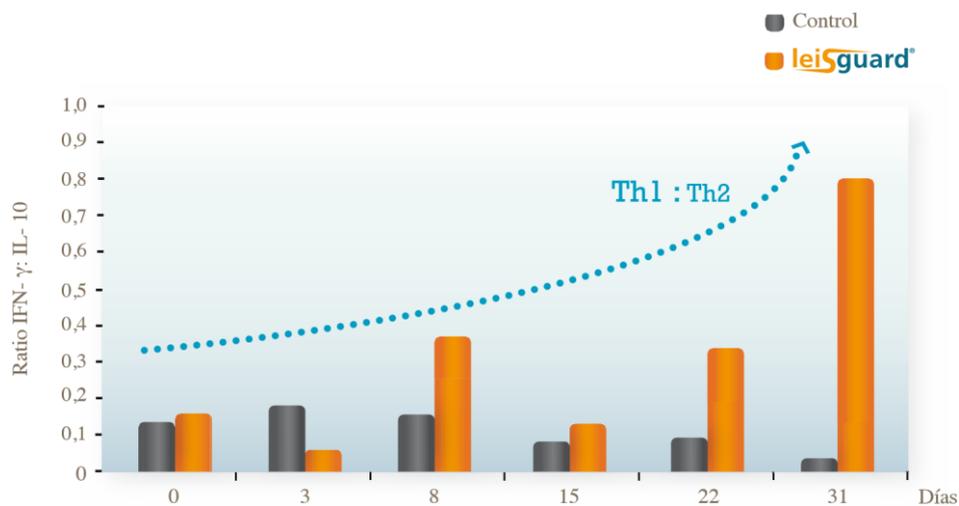
Simulación del perfil farmacocinético de la prolactina sérica en perro tras la administración de un tratamiento de 30 días con Leisguard® (1ml/10kg/24h).



Por otro lado el efecto de la administración repetida de **Leisguard®** sobre el sistema inmunitario y, en concreto, sobre la respuesta inmunitaria de tipo celular ha sido con Àrmado por los resultados de otro estudio (Larraga et al., 2007), en el que se evaluó el efecto del tratamiento sobre la respuesta inmunitaria adquirida a través del seguimiento del ratio entre las citoquinas potenciadoras de la respuesta de tipo celular (Th1) y las potenciadoras de la respuesta de tipo humoral (Th2) sintetizadas por monocitos-macrófagos de perros sanos previamente estimulados con antígeno inespecífico de *Leishmania infantum* y tratados con **Leisguard®** durante un mes consecutivo (**Figura 11**).

Figura 11.

Evolución del ratio de citoquinas Th1:Th2 (IFN- γ :IL-10) en sobrenadante de cultivo de monocitos-macrófagos procedentes de perros beagle sanos inmunizados con antígeno inespecífico de *Leishmania infantum* y tratados con **Leisguard®** (1ml/10kg/24h) durante 4 semanas consecutivas (n=8) vs perros no tratados de un grupo Control (n=8). El estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CIB-CSIC) (España).



Tal y como se observa en la *Figura 11*, la administración repetida de **Leisguard**[®] bajo la dosis y pauta recomendadas (1ml/10kg/24h) conlleva una orientación progresiva del ratio de citoquinas Th1:Th2 hacia un perfil predominantemente Th1, que alcanza un aumento significativo transcurrido un mes de tratamiento.

La dosis y pauta idóneas de **Leisguard**[®] con la que se consigue un perfil sanguíneo de prolactina adecuado para estimular la respuesta inmunitaria de tipo celular (Th1) del perro corresponde a 1ml/10kg/24h, durante 30 días consecutivos.

III.4. Efecto estimulante de Leisguard[®] sobre la respuesta inmunitaria innata

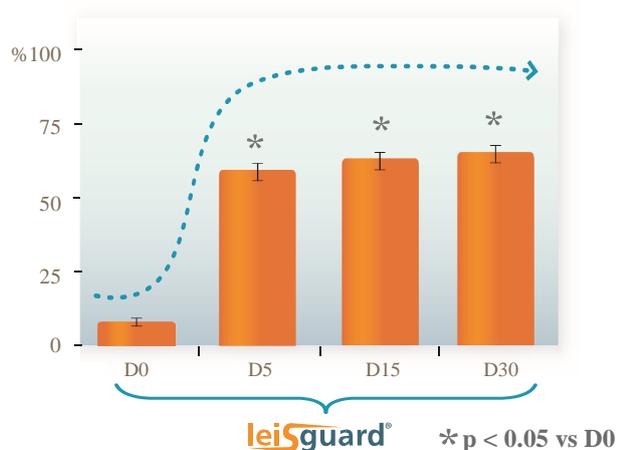
Se ha descrito que el establecimiento de una respuesta inmunitaria adquirida de tipo predominantemente celular (Th1), relacionada con la resistencia a la enfermedad, está influenciado, en gran medida, por la respuesta inmunitaria natural o innata (Bonilla-Escobar, 2005). Dicha respuesta está mediada por células fagocíticas tales como monocitos-macrófagos y neutrófilos, los cuales actúan como barrera de protección frente a la infección participando además, algunas de ellas, en la presentación de antígenos a las poblaciones linfocitarias T. Para ejercer estas funciones, dichas células deben estar adecuadamente activadas.

El efecto de **Leisguard**[®] sobre dichas poblaciones celulares se evaluó en dos estudios distintos (Gómez-Ochoa et al., 2004 y 2008) empleando, para ello, una técnica previamente validada: el test de reducción del Nitroazul de Tetrazolio o NBT, un test que permite discriminar entre células fagocíticas activadas y no activadas, a partir de una reacción colorimétrica (Gómez-Ochoa et al., 2010a y 2012; Scarpona et al., 2010).

Los resultados del primer estudio (Gómez-Ochoa et al., 2004) pusieron en evidencia el incremento significativo ($p < 0.05$) del porcentaje de monocitos-macrófagos y neutrófilos activados a partir del 5º día de tratamiento y hasta la finalización del mismo (*Figura 12*).

Figura 12.

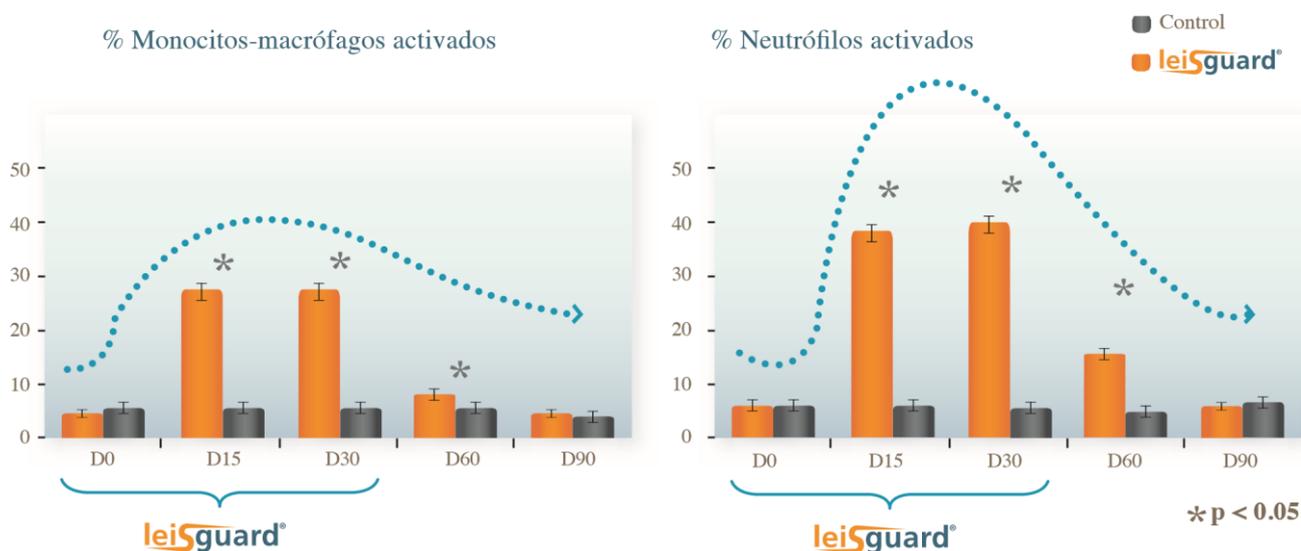
Evolución del porcentaje (Media±EE) de células fagocíticas (monocitos-macrófagos y neutrófilos) activadas antes y durante un tratamiento de 30 días con domperidona en perros beagle sanos (n=20). El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza (España).



Los resultados del segundo estudio (Gómez-Ochoa et al., 2008), en este caso comparativo, con Àrmaron los del estudio anterior y demostraron que la activación signiÀcativa de monocitos-macrófagos y neutróÀlos inducida por un tratamiento con **Leisguard**® a 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos, sobrepasa el período de tratamiento, disminuyendo progresivamente tras su Ànalización (*Figura 13*).

Figura 13.

Evolución del porcentaje (Media±EE) de células fagocíticas activadas antes, durante y después de un tratamiento de 30 días con Leisguard® (1ml/10kg/24h) en perros sanos seronegativos a Leishmania (n=20). El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza (España).



Tal y como se observa en la *Figura 13*, los porcentajes de activación en ambas poblaciones celulares disminuyen progresivamente tras Ànalizar el tratamiento hasta

recuperar sus valores basales, transcurridos dos meses desde la Ànalizaci3n del mismo. El motivo de ello es que el estudio se llev3 a cabo con animales sanos y, por consiguiente, las poblaciones fagoc3ticas activadas no ten3an par3sitos que fagocitar ni ant3genos que procesar/presentar a las poblaciones de linfocitos T implicadas en el establecimiento de la respuesta inmunitaria adquirida. A consecuencia de ello no se pusieron en marcha los mecanismos de retroalimentaci3n de la respuesta inmunitaria celular (Th1) que, en un animal infectado, hubieran garantizado su establecimiento y permanencia a largo plazo, tal y como demuestran los resultados del estudio descrito en el siguiente apartado.

La administraci3n de **Leisguard**[®] bajo la dosis y pauta recomendadas conlleva la estimulaci3n de la respuesta inmunitaria innata del animal y la consecuente activaci3n de las poblaciones celulares fagoc3ticas que actúan como barrera de protecci3n frente a la infecci3n y participan en la presentaci3n de ant3genos a las poblaciones de la respuesta inmunitaria adquirida.

III.5. Efecto estimulante de Leisguard[®] sobre la respuesta inmunitaria adquirida

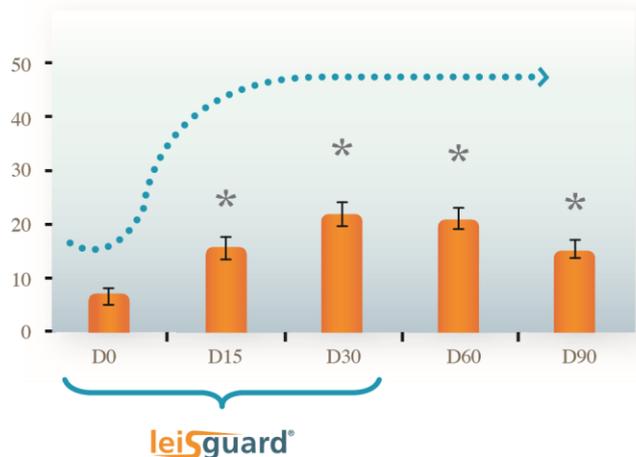
Tal y como se ha comentado anteriormente, la administraci3n de **Leisguard**[®] bajo la dosis y pauta recomendadas conlleva una estimulaci3n de la respuesta inmunitaria adquirida, a trav3s de una orientaci3n del ratio de citoquinas Th1:Th2 hacia un per3l predominantemente Th1 (Larraga et al., 2007). Dicho efecto se traduce, en último t3rmino, en una activaci3n de las células fagoc3ticas encargadas de la eliminaci3n del par3sito tales como los macr3fagos y los neutr3fílos.

Ello ha sido con3rmado en un estudio llevado a cabo con perros con leishmaniosis leve (G3mez-Ochoa et al., 2009a), cuyos resultados demostraron que la administraci3n de **Leisguard**[®] en animales enfermos induce un incremento signifi3cativo del porcentaje de monocitos-macr3fagos y neutr3fílos activados que, a diferencia de lo que ocurre en animales sanos, sobrepasa el per3odo de tratamiento (*Figura 14*). Ello se debe a que la modi3caci3n del entorno citoqu3nico antes mencionado, derivado de la estimulaci3n de la respuesta inmunitaria celular (Th1), pone en marcha, a su vez, mecanismos de retroalimentaci3n que facilitan su establecimiento y permanencia a largo plazo.

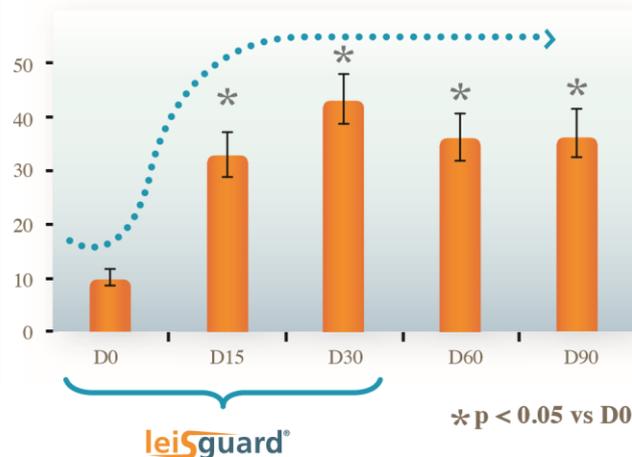
Figura 14

Evolución del porcentaje (Media±EE) de células fagocíticas antes, durante y después de un tratamiento de 30 días con Leisguard® bajo dosis y pauta terapéutica en perros enfermos infectados de forma natural (n=20), con un título positivo de anticuerpos anti-Leishmania (DAT- Direct Agglutination Test = 1/400 a 1/1600, equivalente a IFI - InmunoÁuorescencia Indirecta = 1/80 a 1/320) y signos clínicos leves tales como linfadenomegalia. El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza (España).

% Monocitos-macrófagos activados



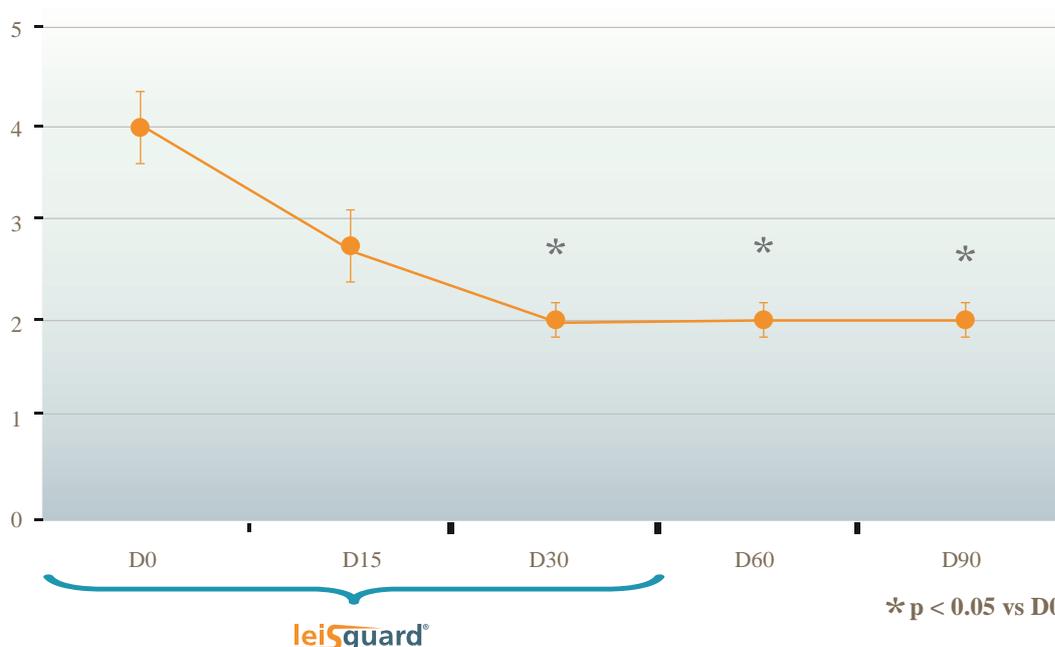
% Neutrófilos activados



A lo largo del estudio los perros experimentaron una mejoría clínica progresiva estadísticamente significativa ($p < 0.05$) respecto a su estado inicial, la cual se correlacionó con el efecto observado sobre la actividad de las células fagocíticas encargadas de la eliminación del parásito, con el avance del tratamiento (Figura 15).

Figura 15.

Evolución clínica de los animales a lo largo del estudio, expresada mediante un Índice Clínico (Media ± EE) previamente descrito en la bibliografía (Penissi et al., 2005).



La administración de **Leisguard**[®] bajo la dosis y pauta recomendadas conlleva la estimulación de la respuesta inmunitaria adquirida del animal y la consecuente activación mantenida en el tiempo de las poblaciones celulares fagocíticas encargadas de la eliminación del parásito.

III.6. **Leisguard**[®] como estimulante de la actividad leishmanicida de los macrófagos

Los resultados de los estudios descritos en el apartado anterior demuestran claramente que **Leisguard**[®] influye sobre el sistema inmunitario del perro contribuyendo al establecimiento y permanencia (en animales infectados) de una respuesta inmunitaria de tipo predominantemente celular, a través de la activación de poblaciones de células fagocíticas tales como los monocitos-macrófagos y los neutrófilos.

Muchos estudios han demostrado que la activación capacita a las células para un mejor funcionamiento. Así, en la leishmaniosis, las células fagocíticas responsables de la eliminación del parásito tales como los monocitos-macrófagos o las células NK, requieren estar activadas para controlar la infección de forma eficiente. En el caso concreto de los monocitos-macrófagos, su activación asegura un eficiente estallido respiratorio o burst oxidativo (uno de los mecanismos citotóxicos empleados por estas células para la eliminación del parásito) y una expresión adecuada de moléculas para la presentación de antígenos, que se refleja en una respuesta exitosa contra el parásito (Bonilla-Escobar, 2005).

El efecto beneficioso de **Leisguard**[®] sobre la capacidad leishmanicida de los macrófagos fue confirmado a partir de los resultados de un estudio llevado a cabo en el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza con 10 perros seronegativos a *Leishmania*, de entre 2 y 8 años de edad, de distintas razas y sexos, a los cuales se administró la especialidad bajo la dosis y pauta recomendadas durante 30 días consecutivos (Gómez-Ochoa et al., 2009b).

Antes del inicio del tratamiento, a mitad del mismo y tras su finalización (días D0, D15 y D30) se extrajo una muestra de sangre de cada animal, se separaron las células mononucleares periféricas (monocitos) y se sembraron en medio líquido para su cultivo. Transcurridos 10 días se adicionaron promastigotes de *Leishmania infantum* al medio de cultivo y a las 48 horas se valoró el porcentaje de macrófagos parasitados así como el porcentaje de macrófagos activados (positivos al test del NBT).



Los resultados obtenidos pusieron en evidencia que la administración de **Leisguard®** indujo un descenso estadísticamente significativo del porcentaje de macrófagos parasitados en los cultivos de las muestras obtenidas a los días D15 y D30 de tratamiento respecto a los valores basales (*Figuras 16 y 17*). Estos resultados se correlacionaron, además, con un incremento significativo del porcentaje de macrófagos activados.

Figura 16.

Imágenes de macrófagos infectados procedentes de muestras obtenidas antes del inicio del tratamiento con Leisguard® (A) así como al final del mismo (B). En la fotografía A se observa el ADN de los amastigotes intactos en el citoplasma de un macrófago mientras que en la B se observan tres macrófagos, dos de ellos con ADN fragmentado de los amastigotes eliminados (imagen difusa en el citoplasma), y el otro con amastigotes intactos.

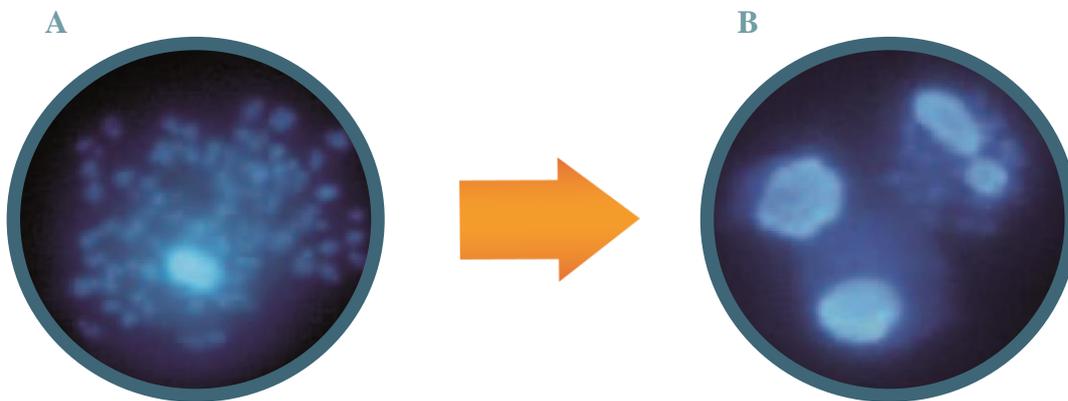
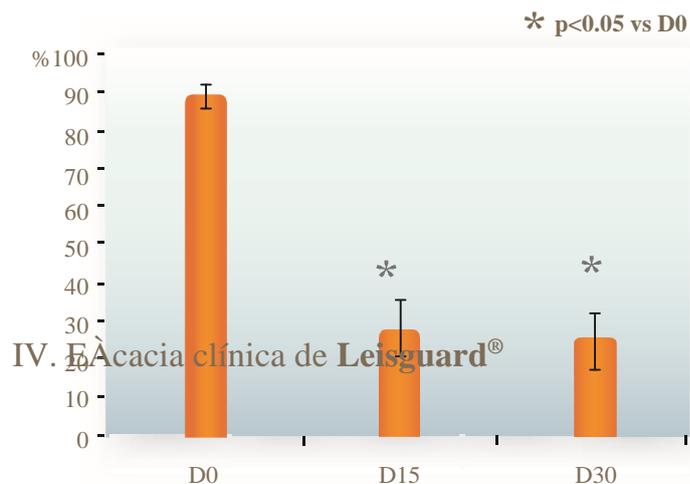


Figura 17.

Evolución del porcentaje (Media±EE) de macrófagos infectados tras un co-cultivo de Leishmania infantum con monocitos-macrófagos procedentes de muestras de sangre obtenidas durante un tratamiento de 30 días con Leisguard® bajo dosis y pauta terapéutica, en animales sanos.



IV. Eficacia clínica de Leisguard®

IV.1. Leisguard® para el control de la progresión clínica de la leishmaniosis canina

Tal y como se ha comentado anteriormente, el avance clínico progresivo de la leishmaniosis canina está claramente relacionado con la instauración de una respuesta inmunitaria adquirida de tipo predominantemente humoral (Th2) por parte del animal infectado. A consecuencia de ello, los linfocitos T producen y liberan citoquinas de tipo Th2 las cuales inducen la sobreproducción de anticuerpos inefectivos frente al parásito y a su vez inhiben la activación de los macrófagos y células NK, responsables de la eliminación de la *Leishmania* (Solano-Gallego et al., 2009). Gracias a ello los parásitos pueden seguir reproduciéndose y el animal entra en un círculo de retroalimentación negativa que puede acabar con su vida a no ser que se instaure un abordaje terapéutico efectivo.

Los fármacos habitualmente empleados para el tratamiento o control de la leishmaniosis canina actúan directamente sobre los parásitos a través de mecanismos de acción leishmanicidas o leishmaniostáticos, en un intento de reducir la carga parasitaria en espera de que el animal pueda revertir la situación y mantener la enfermedad controlada en estado subclínico. Sin embargo, hoy en día se sabe que la consecución de este objetivo depende primordialmente de la capacidad que tenga el perro de reorientar la respuesta inmune (Th2) hacia una respuesta inmune de tipo predominantemente celular (Th1), la cual está estrechamente relacionada con la resistencia al avance de la enfermedad.

La correlación existente entre el efecto estimulante de la domperidona sobre la respuesta inmunitaria celular y la mejoría clínica de animales enfermos tratados con esta molécula bajo condiciones reales de campo fue demostrada por primera vez en un ensayo clínico de campo llevado a cabo en el Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza (España) (Gómez-Ochoa et al., 2009c). El estudio se realizó con 98 perros enfermos infectados de forma natural, los cuales fueron monitorizados durante 12 meses después de un tratamiento de 30 días. Los resultados del estudio evidenciaron una clara mejoría clínica de los perros así como una disminución estadísticamente significativa de su título de anticuerpos anti-*Leishmania*, sobretodo en los casos leves.

Los estudios clínicos de eficacia llevados a cabo con **Leisguard®** que avalan su uso terapéutico se describen a continuación.

Estudios clínicos con **Leisguard®** para el control de la progresión clínica de la leishmaniosis canina

La eficacia terapéutica de **Leisguard®** en animales con infección natural ha sido demostrada en varios estudios de campo llevados a cabo con la colaboración de

IV. Eficacia clínica de Leisguard®

distintos veterinarios clínicos. Uno de ellos, llevado a cabo con 20 perros ha sido ya descrito en un apartado anterior (Gómez-Ochoa et al., 2011) para poner en evidencia que la mejoría clínica de los perros con infección natural durante y después del tratamiento está correlacionada con un incremento del porcentaje de monocitos macrófagos activados. Los resultados de este estudio concuerdan además con los de otro estudio llevado a cabo por el mismo autor con perros enfermos (Gómez-Ochoa et al., 2009c).

Otro de los estudios realizados corresponde a un estudio de campo controlado y ciego llevado a cabo con 41 perros seropositivos a *Leishmania* y con signos clínicos leves, incluidos en dos centros veterinarios distintos de Valencia y Zaragoza (España) (Gómez-Ochoa et al., 2010b). El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios de las Buenas Prácticas Clínicas (VICH-GL9), con la autorización de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

Los perros, de ambos sexos y distintas razas, edades y pesos, se asignaron de forma aleatoria a dos grupos homogéneos: Tratado con **Leisguard®** y Placebo (**Figura 18**). Todos los animales presentaban un título de anticuerpos anti-*Leishmania* positivo leve a moderado (DAT=1/400 a 1/1600, equivalente a IFI=1/80 a 1/320) y signos clínicos leves compatibles con la enfermedad (linfadenomegalia, lesiones cutáneas, etc...). Ninguno de los animales presentaba alteraciones clinicopatológicas ni renales.

Figura 18.

Características de los perros incluidos en cada grupo y test de homogeneidad entre grupos.

		leisguard® (n=22)	Placebo (n=19)	Valor p
Sexo (n y %)	Machos	9 (40.9%)	5 (26.3%)	0.514
	Hembras	13 (59.1%)	14 (73.7%)	
Edad (años)	Media ± DE	6 (2.7)	5 (2.1)	0.629
	Rango	3 - 13	1.5 - 10	
Peso (kg)	Media ± DE	18.2 (9.52)	20.3 (8.96)	0.467
	Rango	4-36	4 - 41	
Raza (n y %)	Mestizo	17 (77.3%)	13 (68.4%)	0.534
	Pastor Alemán	1 (4.5%)	1 (5.3%)	
	Galgo	3 (13.6%)	4 (21.1%)	
	Husky	1 (4.5%)	0 (0%)	
	Cocker	0 (0%)	1 (5.3%)	

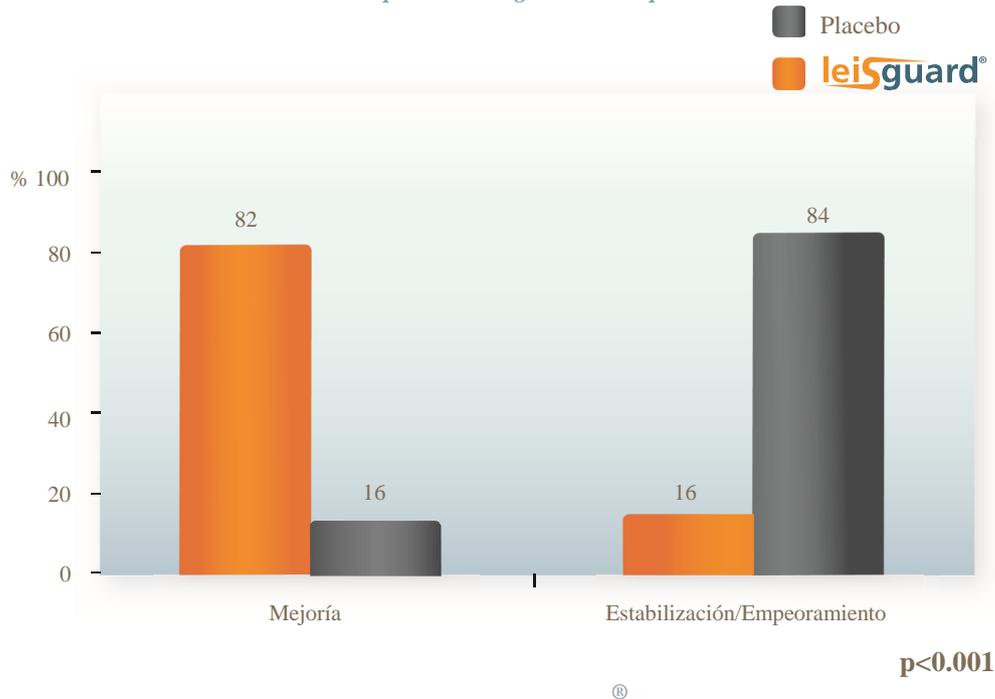
Los animales del grupo Tratado recibieron **Leisguard®** bajo una dosis de 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos. Los animales del grupo Placebo recibieron el excipiente de la especialidad durante el mismo período de tiempo. Con el fin de garantizar el carácter ciego del estudio, ambos productos fueron enmascarados.

A lo largo de un período de seguimiento de entre 6 y 10 meses (7 meses de promedio) los animales se sometieron a varios exámenes clínicos: antes del inicio del tratamiento (Basal), a los 3 meses (Intermedio) y a los 7 meses (Final) del inicio del mismo. Para la valoración de la eficacia del tratamiento con **Leisguard**[®], en cada uno de los exámenes clínicos se procedió a evaluar y puntuar 11 parámetros clínicos y bioquímicos específicos con los que se calculaba un Índice Clínico anteriormente referenciado en la bibliografía (Penissi et al., 2005).

Durante el estudio, los animales del grupo Placebo experimentaron un empeoramiento significativo ($p < 0.05$) de su estado clínico respecto a su estado inicial indicativo del avance de la enfermedad. Por el contrario, los animales del grupo Tratado experimentaron una mejoría clínica significativa ($p < 0.05$) evidenciable a partir de los 3 meses desde el inicio del tratamiento. En concreto, mientras que el 84% de los perros del grupo Placebo empeoraron o no experimentaron ningún cambio, el 82% de los perros del grupo Placebo empeoraron o no experimentaron ningún cambio, el 82% de los perros del grupo Tratado presentaron una mejoría clínica, siendo las diferencias observadas entre ambos grupos estadísticamente significativas ($p < 0.001$) (*Figura 19*).

Figura 19.

Estado clínico de los animales al final del período de seguimiento respecto a su estado inicial.



Entre los parámetros más afectados destacaron el título de anticuerpos anti-*Leishmania* y el grado de linfadenomegalia. Así, al final del período de seguimiento los animales tratados con **Leisguard**[®] habían experimentado una mejoría

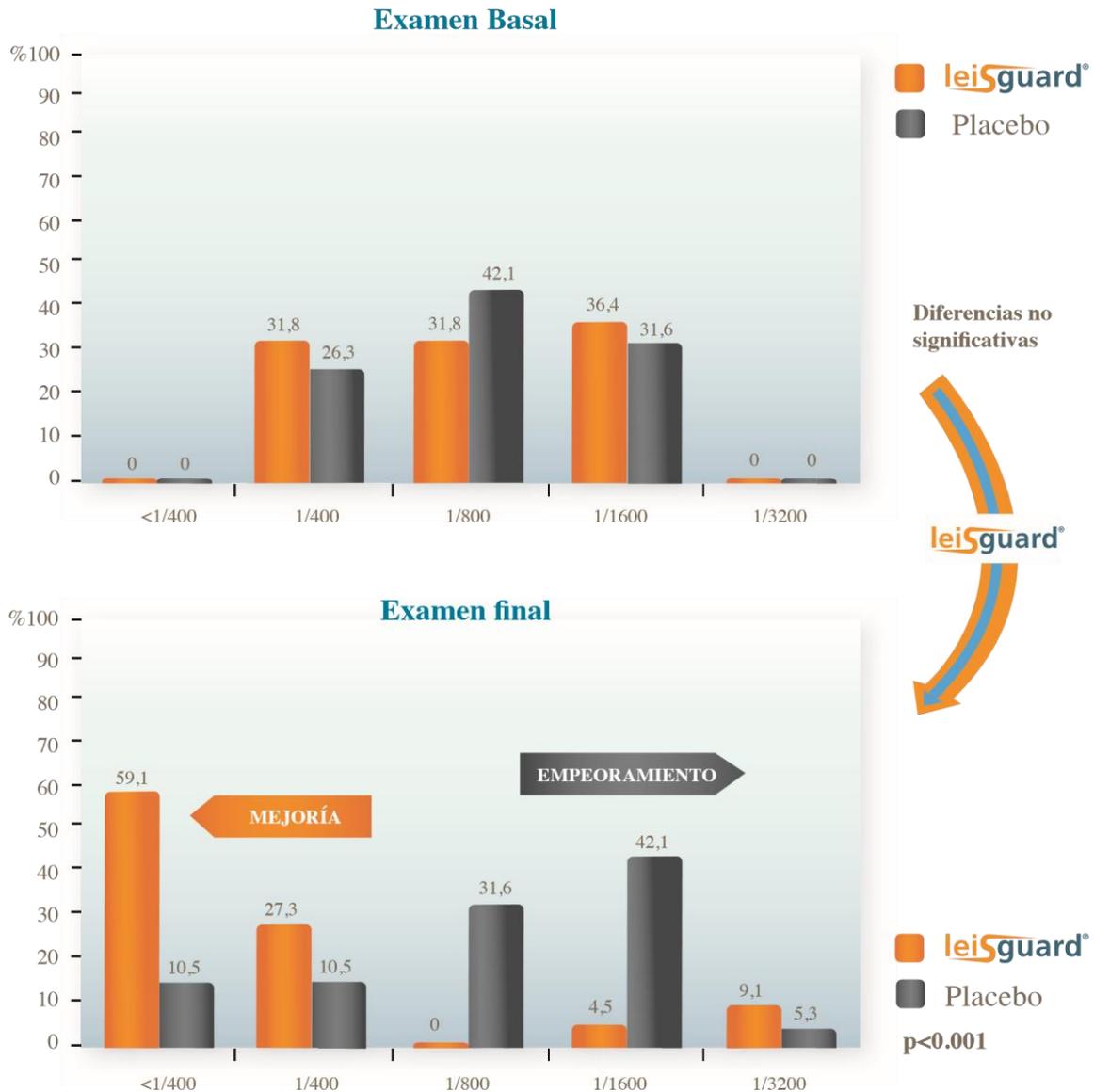
IV. Eficacia clínica de Leisguard®

significativa en ambos parámetros, mientras que en los animales del grupo placebo éstos habían empeorado (**Figura 20**).

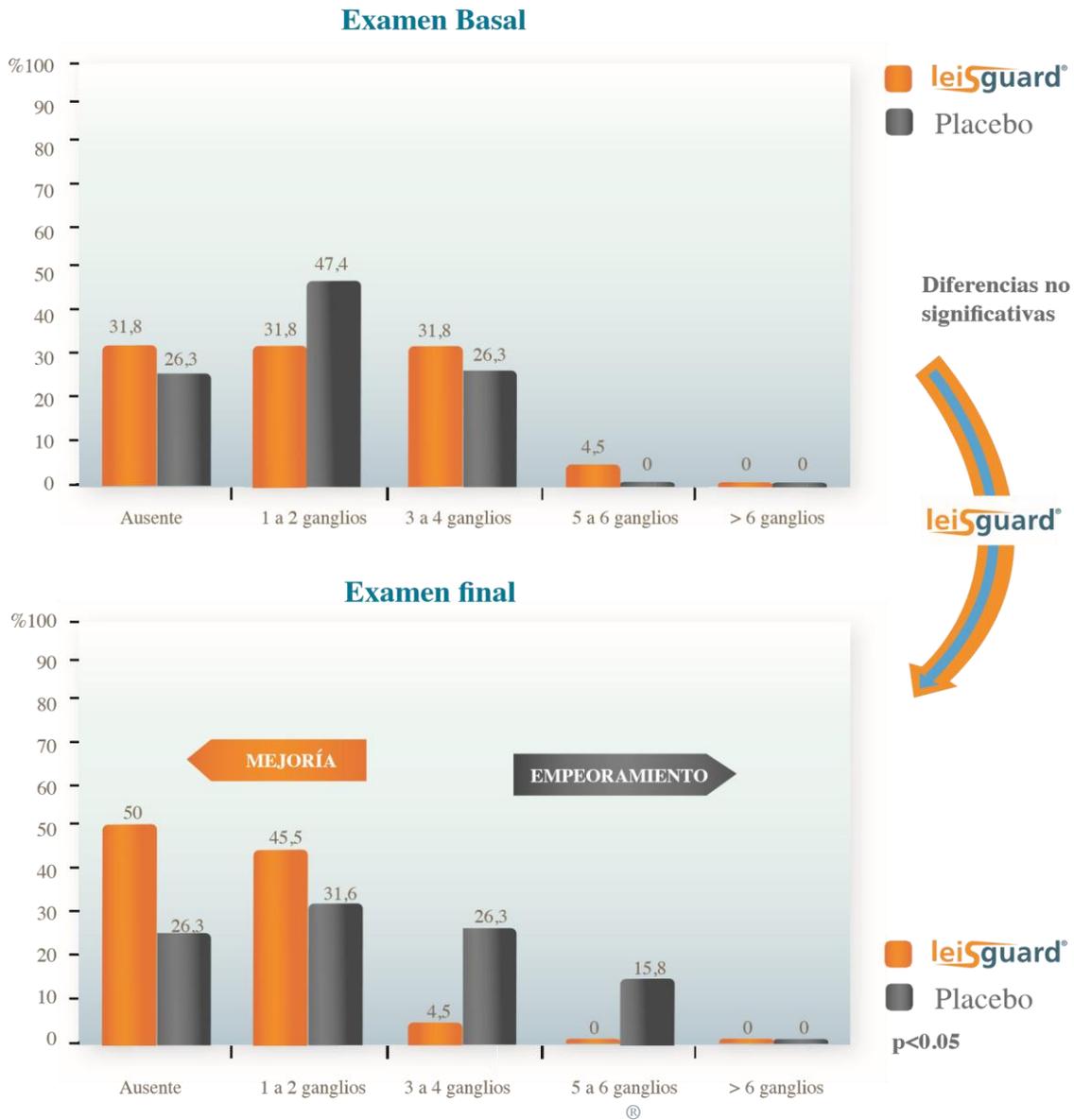
Figura 20.

Cambios en el título de anticuerpos anti-Leishmania (A) y grado de linfadenomegalia (B) en ambos grupos durante el estudio.

A) Cambios en el título de Ac anti-Leishmania (en % de animales)



B) Cambios en el grado de linfadenomegalia (en % de animales)

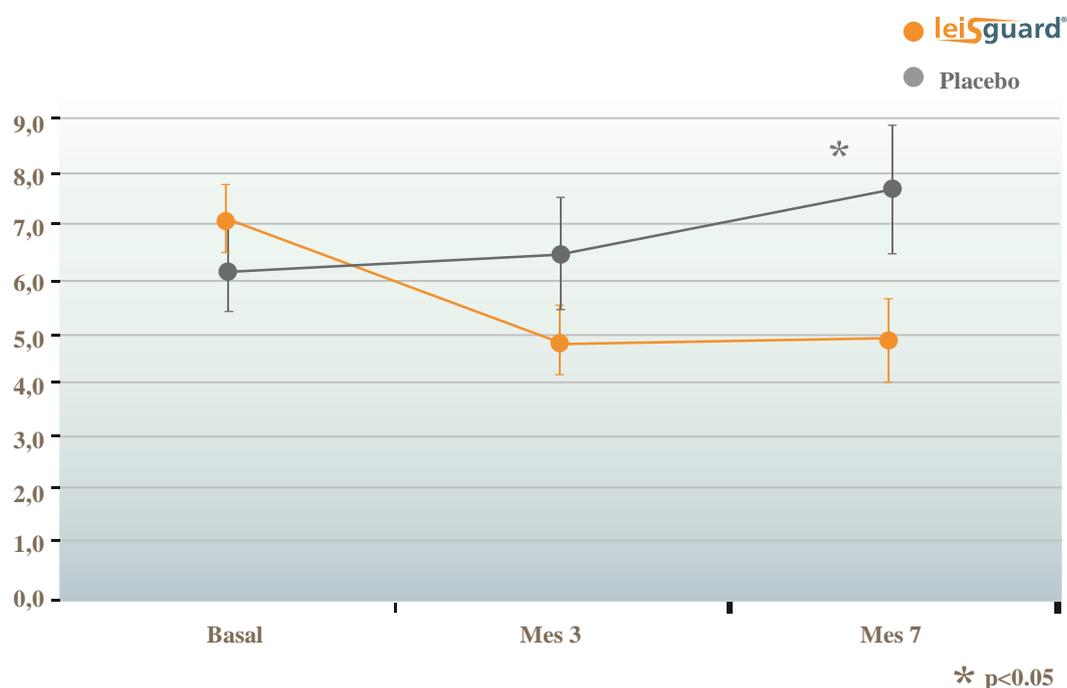


Por último, el análisis estadístico de las diferencias observadas en el Índice Clínico entre ambos grupos de tratamiento en cada uno de los exámenes evidenció, en primer lugar, la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los valores basales (conformándose así la homogeneidad entre ambos grupos) y, en segundo lugar, la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre grupos al final del período de observación (7 meses), a favor del grupo tratado con **Leisguard®** ($p < 0.05$) (Figura 21).

IV. Eficacia clínica de Leisguard®

Figura 21.

Evolución del Índice Clínico (Media±EE) en ambos grupos a lo largo del estudio.



Por último, ninguno de los animales del estudio presentó signos clínicos indicativos de intolerancia al tratamiento con **Leisguard®**.

Leisguard® es un tratamiento seguro y eficaz para el control del avance clínico de la leishmaniosis canina en casos leves o estadios iniciales de la enfermedad.

IV.2. Leisguard® para la prevención de la leishmaniosis canina

Tal y como se ha comentado anteriormente, tras la inoculación de los parásitos de *Leishmania* en la piel por el Áetotomo, se inicia un proceso inÁamatorio local, con acumulación de células residentes y células de sangre periférica que migran al tejido a través del endotelio vascular atraídas por la presencia del parásito. Estas poblaciones celulares constituyen la defensa no especíÁca del animal hacia la *Leishmania*, conocida como respuesta inmunitaria innata que, además de ejercer un control inicial de la infección, inÁuye en el direccionamiento del sistema inmunitario especíÁco a partir del cual se desarrolla la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad (Bonilla-Escobar, 2005).

De acuerdo con los estudios descritos en el apartado anterior, la administración de **Leisguard®** a perros sanos conlleva la activación de dichas poblaciones celulares y,

en especial, de su potencial leishmanicida, mecanismo clave a través del cual se justifica su eficacia en la prevención de la leishmaniosis canina.

Los estudios clínicos de eficacia llevados a cabo con **Leisguard**[®] que avalan su uso preventivo se describen a continuación.

Estudios clínicos con Leisguard[®] para la prevención de la leishmaniosis

La eficacia de **Leisguard**[®] para reducir el riesgo de infección por *Leishmania* y posterior desarrollo de la enfermedad clínica ha sido demostrada en dos estudios de campo llevados a cabo con más de 400 perros de múltiples razas, edades y pesos, residentes en dos zonas endémicas de la cuenca mediterránea, con alta y baja prevalencia.

Una de las particularidades de ambos estudios es que en lugar de aplicar un único tratamiento con **Leisguard**[®] se aplicó un programa de prevención estratégico adaptado al riesgo específico de infección, consistente en la administración de dos o tres tratamientos distribuidos a lo largo del año, contemplando el periodo de actividad del vector. Las bases teóricas de dicho programa derivan del efecto de **Leisguard**[®] sobre la activación de la respuesta innata de perros no infectados anteriormente descrita.

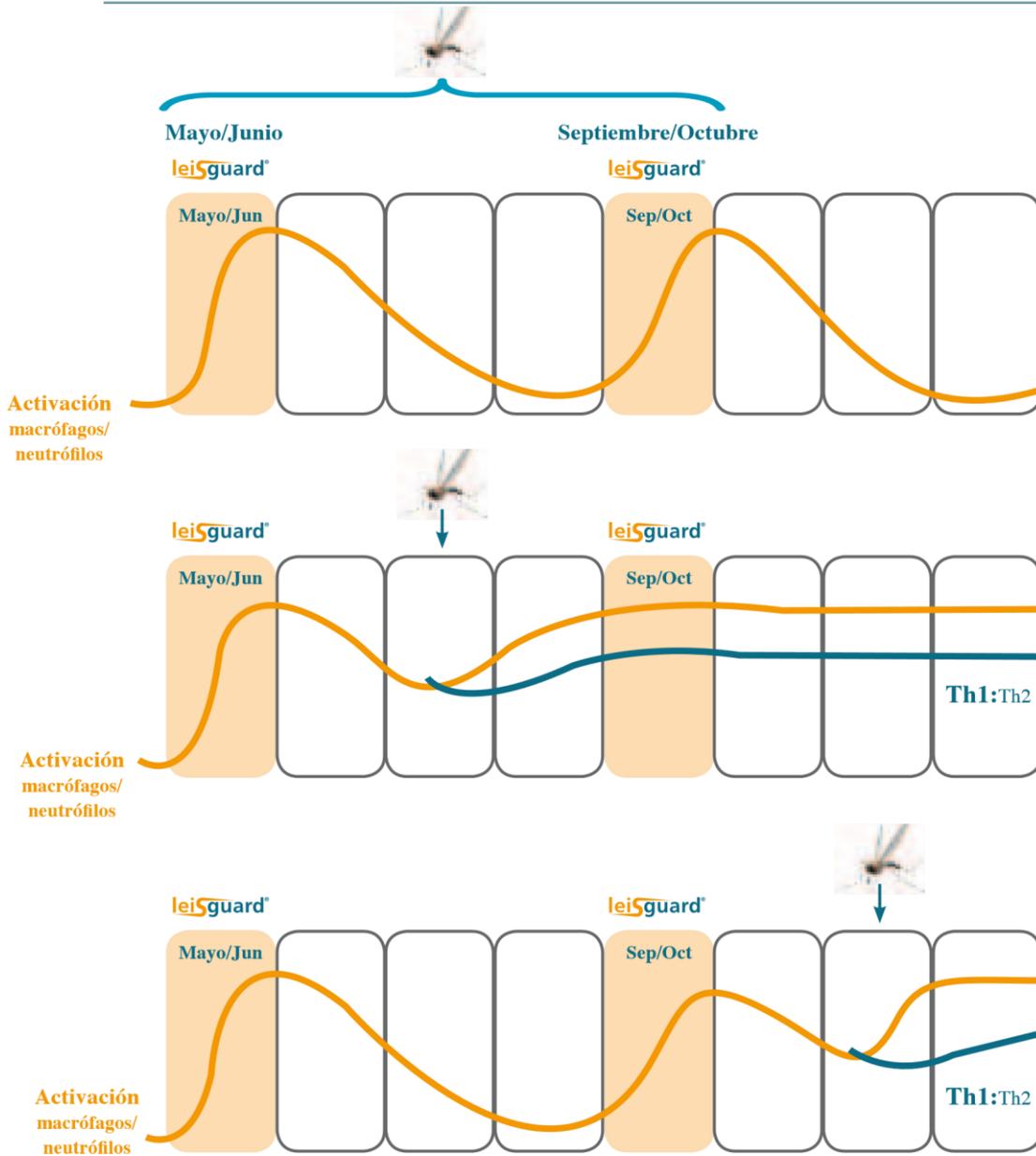
A modo de recordatorio, **Leisguard**[®] induce la activación de las poblaciones fagocíticas que constituyen la primera defensa del animal, aumentando su potencial leishmanicida. En caso de no entrar en contacto con el parásito, el porcentaje de macrófagos activados va disminuyendo progresivamente tras el tratamiento.

Sin embargo, si el perro se infecta durante este período los macrófagos activados son capaces de eliminar con mayor eficacia el parásito y presentar el antígeno de forma más eficiente a las poblaciones linfocitarias contribuyendo al establecimiento de una respuesta adquirida con un componente predominantemente celular (Th1), relacionado con la resistencia a la enfermedad. Dicha respuesta, a su vez, garantiza la activación continuada de las poblaciones fagocitarias encargadas de la eliminación del parásito (**Figura 22**).

Figura 22.

Simulación del estado de activación de las poblaciones celulares fagocíticas (macrófagos y neutrófilos) a lo largo de un programa de tratamiento establecido de forma estratégica contemplando el período de actividad del vector.

IV. Eficacia clínica de Leisguard®



De acuerdo con ello, la administración periódica de varios tratamientos de 30 días con **Leisguard®** a lo largo del año, establecidos de forma estratégica en función del riesgo de infección, haciendo coincidir dos de ellos con el inicio y final del período de actividad del vector, garantizaría la adecuada estimulación del sistema inmunitario para enfrentarse a una infección durante el periodo de riesgo.

En zonas de baja prevalencia

La eficacia preventiva de **Leisguard®** en zonas de baja prevalencia fue demostrada en un estudio en Valladolid (España) con 240 perros clínicamente sanos y seronegativos a *Leishmania infantum* (DAT < 1/400), de distintas razas, sexos, pesos y edades (Gómez-Ochoa et al., 2009d). El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los

principios de las Buenas Prácticas Clínicas (VICH-GL9), con la autorización de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

El estudio empezó el mes de Junio, coincidiendo con el inicio del período de actividad del vector y tuvo una duración de 9 meses. La mitad de los animales (n=120) recibió dos tratamientos con **Leisguard**[®], uno al inicio y otro al final del período de actividad del vector en la zona (Junio y Septiembre), bajo una dosis de 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos. Los perros restantes no fueron tratados. A lo largo del estudio no se aplicaron productos o collares repelentes de insectos a ninguno de los animales.

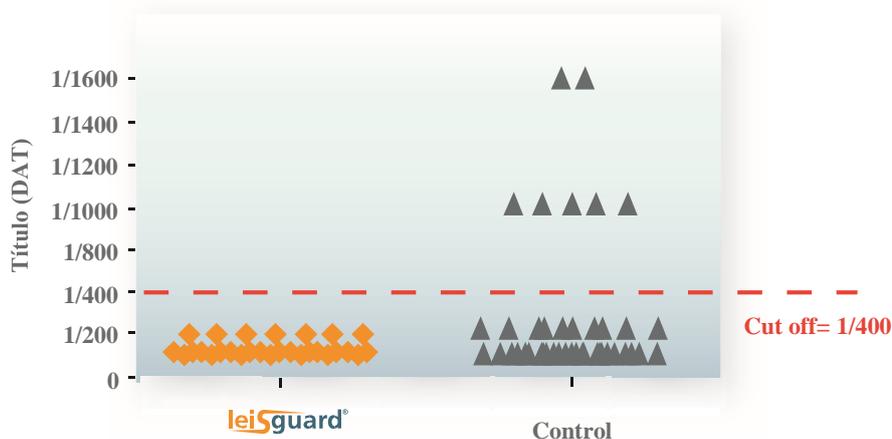
Todos los animales fueron examinados clínicamente de forma periódica con el fin de detectar signos clínicos compatibles con la enfermedad. Al finalizar el estudio se obtuvo una muestra de sangre de cada uno de los perros para determinar su título de anticuerpos anti-*Leishmania*.

A lo largo del estudio la mayoría de los perros presentaron un estado clínico normal a excepción de algunos animales de ambos grupos de tratamiento que sufrieron heridas superficiales a consecuencia de peleas. En otros 7 animales del grupo no tratado se observó la aparición de linfadenomegalia y alopecia durante el último mes de seguimiento. Al finalizar el estudio, estos 7 animales fueron los únicos animales seropositivos a *Leishmania* (DAT •1/400) (**Figura 23**). En estos animales la infección fue confirmada por observación directa de amastigotes de *Leishmania* en el interior de macrófagos en alguna de las muestras de linfonodo o médula ósea obtenidas por punción en aguja fina. Todos los animales tratados con **Leisguard**[®] permanecieron seronegativos sin mostrar signos clínicos compatibles con la enfermedad.

Figura 23.

Título de anticuerpos anti-Leishmania (DAT) de los perros del grupo tratado con Leisguard[®] (n=120) y de los del grupo control (n=120) al final del tratamiento.

IV. Eficacia clínica de Leisguard®



Las diferencias observadas entre el grupo control y el grupo tratado en términos de incidencia de la enfermedad (5.83% vs 0%) fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$), y ponen en evidencia la gran eficacia de un programa de prevención como el que se estableció en este estudio.

En zonas de alta prevalencia

La eficacia preventiva de **Leisguard®** en zonas de alta prevalencia fue demostrada en un estudio en Valencia (España), con un total de 183 perros sanos seronegativos frente a *Leishmania* (IFI < 1/80), de más de 24 razas, ambos sexos y distintas edades y pesos, residentes en urbanizaciones de las afueras de la ciudad con una prevalencia superior al 20%. El estudio se llevó a cabo con la autorización de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios y se realizó en dos fases:

Fase I

La primera fase (Llinás et al., 2011a) tuvo una duración de 21 meses y se llevó a cabo con 90 perros distribuidos en dos grupos homogéneos: tratado y control (*Figura 24*).

Figura 24.
Características de los perros en ambos grupos y análisis de homogeneidad.

		leisguard®	Control	Valor p
Sexo (n y %)	Machos	25 (56.8%)	25 (54.3%)	0.981
	Hembras	19 (43.2%)	21 (45.7%)	
Edad (años)	Media±DE	5 (2.2)	5 (2.3)	0.595
	Rango	1 - 10	1 - 10	
Peso (kg)	Media±DE	20.3 (10.83)	20.4 (8.46)	0.683
	Rango		7 - 43	
Raza (n y %)	Mestizo	13 (29.5%)	23 (50.0%)	0.606
	Otras *	31 (70.5%)	23 (50.0%)	

* hasta 24 razas distintas

Los animales del grupo tratado (n=44) recibieron un tratamiento con **Leisguard®** bajo una dosis de 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos, de forma cuatrimestral a lo largo de los 21 meses. En todos los casos se programó el primer tratamiento para principios del período de actividad del vector (Mayo-Junio). Los animales del grupo control no recibieron ningún tratamiento. La asignación de los animales a cada uno de los dos grupos de tratamiento se realizó de forma aleatoria. Todos los propietarios de los perros se comprometieron a no aplicar productos o collares repelentes de insectos a lo largo del estudio.

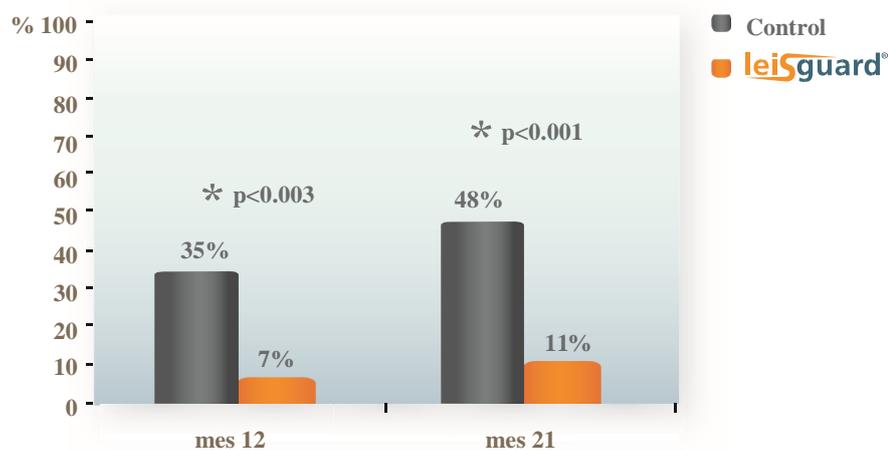
Todos los animales fueron examinados clínicamente de forma periódica con el fin de detectar signos clínicos compatibles con la enfermedad. En cada examen se tomaba una muestra de sangre de cada perro para determinar su título de anticuerpos anti-*Leishmania*. Cuando en uno de los exámenes se observaban signos clínicos compatibles con la enfermedad (linfadenomegalia, dermatitis...) y un título positivo de anticuerpos (IFI • 1/80), indicativos de infección activa y progresión clínica de la enfermedad, el animal era retirado del estudio y tratado según criterio clínico del veterinario. Con los datos obtenidos a lo largo del estudio se llevaron a cabo dos análisis estadísticos: uno a los 12 meses y otro a los 21 meses.

El porcentaje de animales enfermos (serología positiva y signos clínicos) fue significativamente inferior en el grupo tratado con **Leisguard®** que en el grupo control tanto a los 12 meses (7% vs. 35%; p=0.003) como a los 21 meses (11% vs. 48%; p<0.001) (*Figura 2*

IV. Eficacia clínica de Leisguard®

Figura 25.

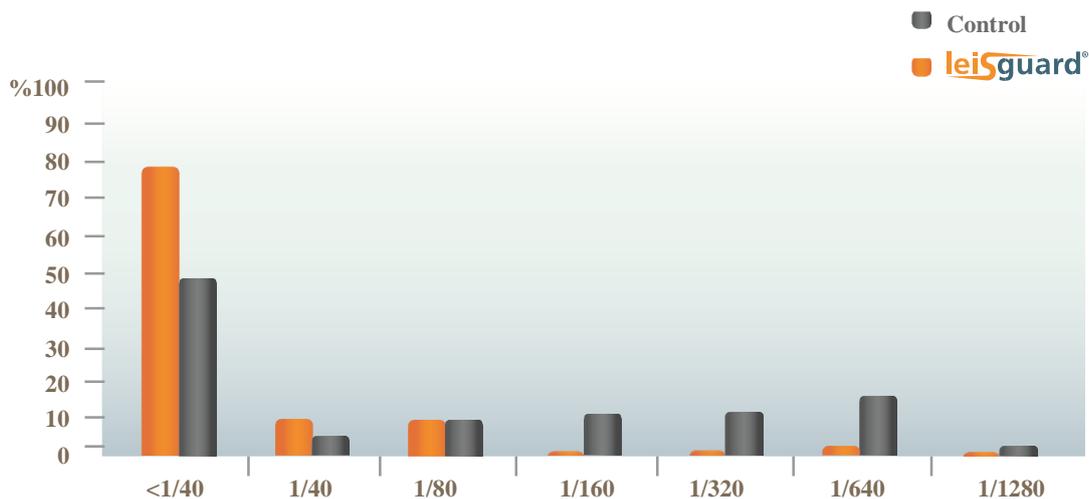
Porcentaje de animales con infección activa y progresión de la enfermedad en ambos grupos a los 12 y a los 21 meses después del inicio del programa de prevención con Leisguard® en el grupo tratado.



Además, entre los perros seropositivos de ambos grupos en el momento de ser retirados del estudio, los títulos de anticuerpos anti-*Leishmania* fueron más elevados en el grupo control que en el grupo tratado con Leisguard® (Figura 26).

Figura 26.

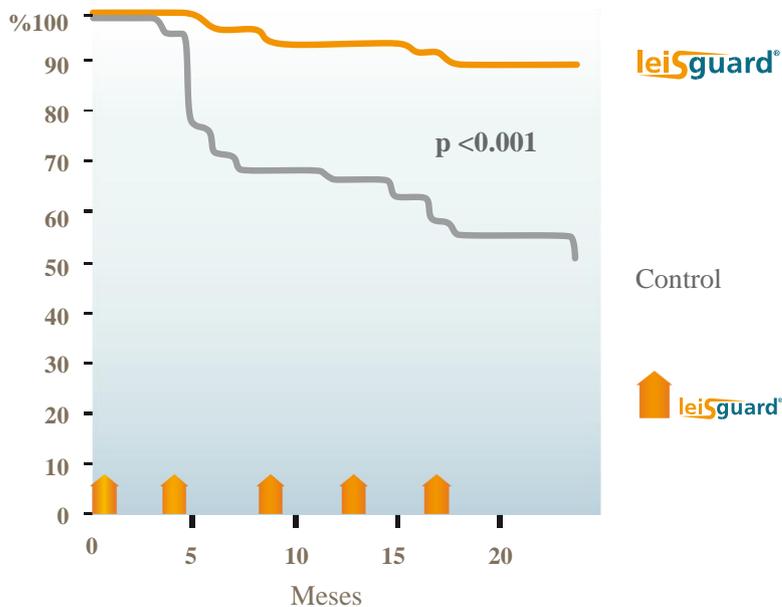
Distribución de los distintos títulos de anticuerpos anti-*Leishmania* (IFI) entre los perros de ambos grupos retirados durante el estudio.



Asimismo, también se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p < 0.001$), a favor del grupo tratado con **Leisguard®**, en relación al ‘tiempo transcurrido hasta la retirada de los animales’ (*Figura 27*).

Figura 27.

Curvas de evolución del porcentaje de animales seronegativos clínicamente sanos en ambos grupos a lo largo del estudio.



De acuerdo con los porcentajes acumulados de perros sanos y enfermos en ambos grupos al final del estudio, la eficacia preventiva atribuible al programa de tratamiento con **Leisguard®** bajo las condiciones del presente estudio fue del 80% (*Figura 28*). Asimismo, según estos mismos datos, la probabilidad de desarrollar la enfermedad clínica (calculada en términos de Odds-ratio) es 7.2 veces inferior en los animales tratados con **Leisguard®** que en los animales no tratados.

Figura 28.

Interpretación de los resultados a los 21 meses.

	Enfermos	Sanos	Significación estadística
Control (n= 46)	22 (48%)	24 (52%)	p < 0.001
Leisguard® (n= 44)	5 (11%)	39 (89%)	

Eficacia preventiva = $0.48 - 0.11 / 0.48 = 0.8$ (80%)

Odds-ratio (OR) = $0.48 / 0.52 / (0.11 / 0.89) = 7.2$ (I.C. 95% = 2.389 - 21.40)

IV. Eficacia clínica de Leisguard®

Fase II

El objetivo de la segunda fase fue confirmar los resultados de la primera fase a través de su ampliación mediante la inclusión, en el mismo centro veterinario, de 93 nuevos perros seronegativos ($\text{DAT} < 1/400$) procedentes de la misma zona geográfica que los de la primera fase, a lo largo del siguiente período de actividad del vector (Llinás et al., 2011b).

En este caso, todos los perros recibieron un programa de prevención basado en la administración de dos tratamientos con **Leisguard®**, uno al inicio y otro al final del período de actividad del vector (Mayo/Junio y Septiembre/Octubre) bajo una dosis de 1ml/10kg/24h durante 30 días consecutivos. Los animales fueron sometidos a exámenes clínicos periódicos a lo largo de 9 meses con el fin de detectar signos clínicos compatibles con la enfermedad. Al finalizar el estudio se obtuvo una nueva muestra de sangre de cada uno de los perros para determinar su título de anticuerpos anti-*Leishmania*. Al igual que en la Fase I, a lo largo del período de seguimiento no se aplicaron productos o collares repelentes de insectos a ninguno de los perros. Los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos en el grupo control de la Fase I (control histórico).

Durante el estudio, la mayoría de los perros presentaron un estado clínico normal sin observarse signo alguno compatible con la leishmaniosis canina. Sin embargo, el análisis serológico de las muestras de sangre obtenidas al final del estudio puso en evidencia la presencia de 7 animales seropositivos; 1 perro con un título $\text{DAT} = 1/800$ y 6 perros con un título $\text{DAT} = 1/1600$.

El porcentaje de animales seropositivos obtenidos en esta segunda fase del estudio fue parecido al de animales seropositivos obtenidos en el grupo tratado (a los 12 meses) de la Fase I (7.5% y 7%, respectivamente). Al comparar este porcentaje con el de animales seropositivos en el grupo no tratado de la primera fase (control histórico), las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas (7.5% vs 35%; $p < 0.001$). De acuerdo con estos datos, la eficacia preventiva atribuible al programa de prevención resultó ser del 80%, confirmando así los resultados obtenidos en la primera fase (*Figura 29*).

Por último, destacar que sólo 4 de los perros incluidos en grupo tratado con **Leisguard®** presentaron signos clínicos atribuibles a un efecto secundario al tratamiento (2 galactorrea, 1 heces blandas y 1 diarrea).

Figura 29.

Interpretación de los resultados comparando los animales tratados en la Fase II con los animales no tratados en la Fase I, a los 12 meses.

	Enfermos	Sanos	Significación estadística
leiSguard® Fase II (n=93)	7 (7.5%)	86 (92.5%)	p < 0.001
Control Fase I (n=44)	16 (35%)	30 (65%)	

Misma eAcacia preventiva (80%)

Leisguard® es un tratamiento seguro y eAcaz para reducir el riesgo de desarrollar una infección activa por *Leishmania* en caso de contacto con el parásito, cuando se administra de acuerdo con un programa de prevención estratégico en zonas endémicas con baja o alta incidencia de la enfermedad.



V. ¿Cómo usar **Leisguard**[®] en la práctica?

V.1. El producto

Leisguard[®] se presenta en frascos conteniendo 60 ml de suspensión a una concentración de 5 mg de domperidona/ml, lo que supone que hay que administrar 1 ml por cada 10 kg de peso (equivalente a 0.5 mg/kg de principio activo). El producto se presenta con dos jeringas dosificadoras que permiten una dosificación muy precisa cualquiera que sea el peso del animal. Una unidad de 60 ml basta para un tratamiento de 30 días para un perro de 20 kg. En caso de quedar producto sobrante, este puede usarse en una segunda tanda de tratamiento siempre y cuando se administre dentro de los 8 meses posteriores a la primera apertura del frasco.

En todas las pruebas realizadas con **Leisguard**[®] el producto ha sido aceptado sin problemas por los perros, bien administrándolo directamente en la boca, bien incorporándolo al alimento. De hecho, según los estudios de farmacocinética y biodisponibilidad realizados con **Leisguard**[®], cuando se administra junto con el alimento se alcanzan mayores niveles plasmáticos de su principio activo que si se administra en ayunas (*Figura 30*). Asimismo, se ha comprobado que cualquiera que sea su modo de administración (forzada o en alimento), se consiguen unos picos de prolactina muy similares (*Figura 31*). Por tanto, la administración en el alimento es muy recomendable cuando se trate a perros mantenidos individualmente. Si no se puede garantizar que el paciente ingiera todo el alimento que contenga su dosis correspondiente de **Leisguard**[®], por ejemplo cuando convivan varios perros en el mismo domicilio, es preferible asegurar su correcta dosificación administrándolo directamente en la boca.

Sin embargo, la administración reiterada de dosis demasiado elevadas o demasiado bajas podría afectar al pico de prolactina y a su retorno a los niveles basales, lo que podría modificar su eficacia tanto en la prevención como en el tratamiento de la leishmaniosis. Dado que el adecuado estímulo de la respuesta celular se consigue a partir de una sucesión de picos transitorios de prolactina (Rovensky et al., 1995, 1996 y 1999), que tienen lugar cuando **Leisguard**[®] se administra a la dosis exacta y la pauta recomendada, es necesario determinar el peso del animal y administrar **Leisguard**[®] de forma precisa utilizando la jeringa dosificadora.

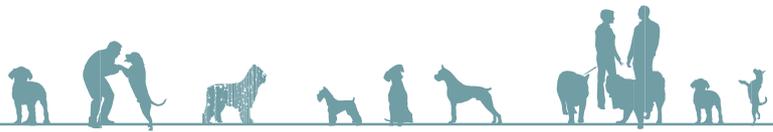


Figura 30.

Niveles plasmáticos de Domperidona tras la administración de una dosis de Leisguard® en ayunas o junto con el alimento (Media \pm DE).

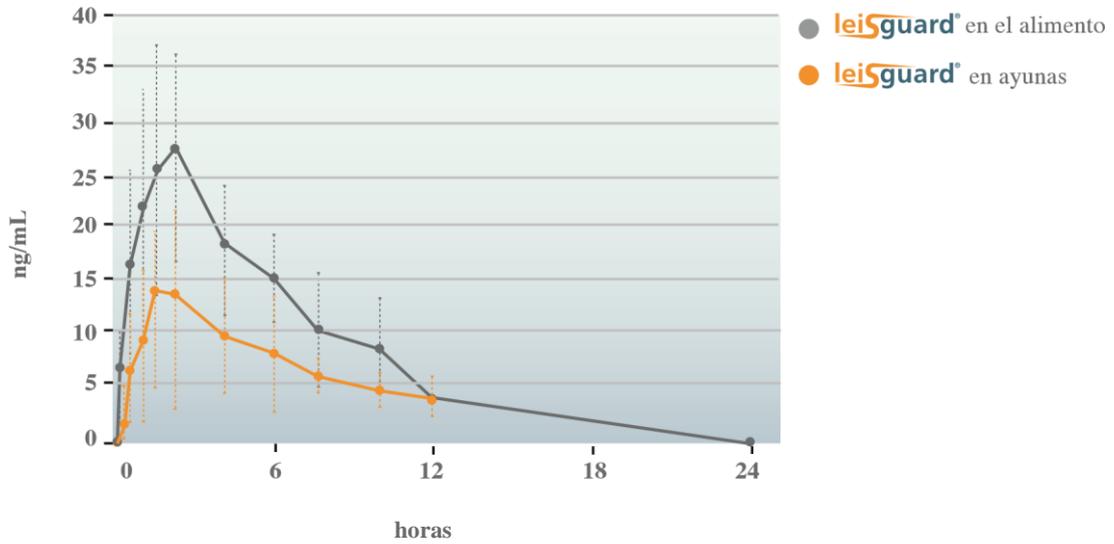
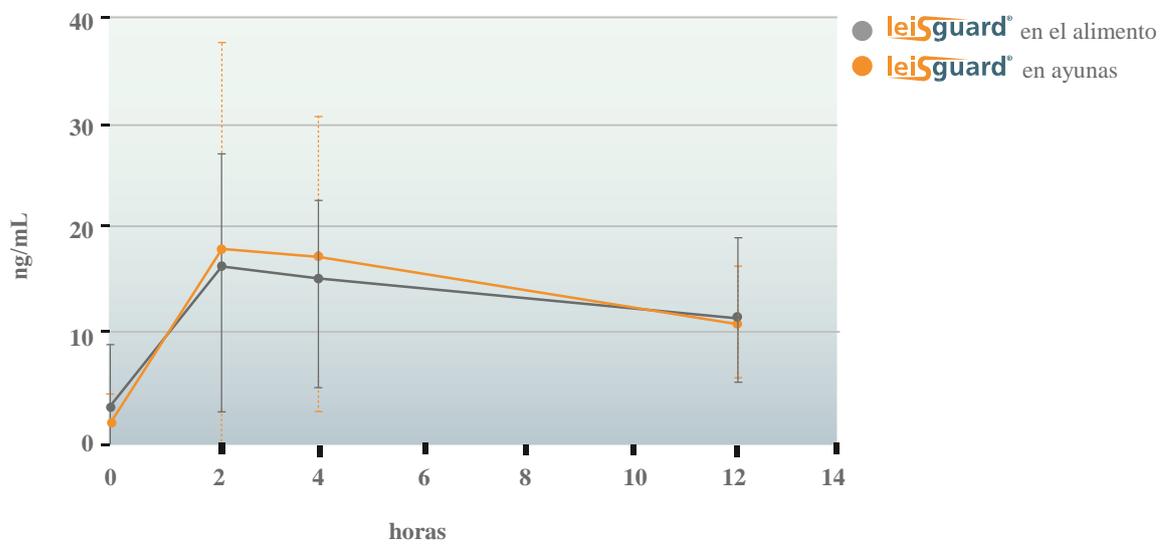


Figura 31.

Niveles plasmáticos de Prolactina tras la administración de una dosis de Leisguard® en ayunas o junto con el alimento (Media \pm DE).



V. ¿Cómo usar **Leisguard**[®] en la práctica?

V.2. Un excelente perfil de seguridad

La domperidona (principio activo de **Leisguard**[®]) prácticamente no atraviesa la barrera hematoencefálica, motivo por el cual no se le atribuyen efectos secundarios de tipo extrapiramidal (Reyntjens et al.,1978; Rooyen et al.,1981; Kohli et al.,1983).

Leisguard[®] goza de un amplio margen de seguridad, como se ha demostrado en las pruebas clínicas efectuadas, en las que, tras haber administrado varias tandas de tratamiento a más de 300 perros, tan sólo se han descrito casos aislados de galactorrea, heces blandas o diarrea.

Por otra parte, en los estudios de tolerancia se administró a dosis de hasta 5 veces la dosis terapéutica durante un año sin observarse efectos adversos apreciables. Por tanto, no es de esperar que se produzca alteración alguna en el paciente en caso de sobredosificación.

Los estudios de reproducción efectuados en animales de experimentación no mostraron indicios de efectos teratogénicos ni tóxicos, ni para el embrión ni para la madre, incluso a dosis 20 veces superiores a la dosis recomendada. Sin embargo, puesto que no existen suficientes estudios bien controlados realizados en perras gestantes debe realizarse una valoración riesgo/beneficio antes de tratar en este período. Si se administra a perras lactantes, al igual que se ha descrito en hembras de diversas especies, es probable que induzca un aumento de la producción de leche.

Dado su mecanismo de acción, debe usarse con precaución en animales con episodios previos de pseudogestación, puesto que podría contribuir a exacerbar la sintomatología.

V.3. El paciente: La importancia del diagnóstico precoz

Como en cualquier enfermedad grave, la detección temprana de la infección por *Leishmania* es esencial para garantizar el éxito de cualquier terapia. Sin embargo, tal como se ha descrito anteriormente, perros clínicamente sanos pueden estar desarrollando la leishmaniosis de forma silente. Según Baneth et al. (2008), la enfermedad renal puede ser la única alteración aparente en perros infectados. Por tanto, para conocer exactamente el estado del paciente, es necesario complementar el examen clínico con pruebas diagnósticas específicas. En función de los resultados deberá establecerse la terapia idónea, bien sea preventiva o terapéutica.

Estudios recientes han demostrado que la técnica diagnóstica que presenta el potencial más alto para detectar la infección por *Leishmania infantum* precozmente es la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), mientras que otras pruebas muy utilizadas en leishmaniosis como IFI y PCR cuantitativa, tienen un rendimiento inferior. (Rodríguez-Cortés et al., 2010). Es, asimismo, muy importante que sea cual sea el test utilizado sea del tipo cuantitativo puesto que aporta información en cuanto a grados de seropositividad que pueden tener un cierto valor pronóstico, así como una mayor sensibilidad. De hecho, los grupos de expertos en leishmaniosis recomiendan que, si se utilizara un test cualitativo rápido, en caso de obtener un resultado positivo, sería igualmente necesario evaluar de nuevo al paciente utilizando un test cuantitativo (Cardoso et al., 2004a; Podaliri et al., 2011; Solano-Gallego et al., 2011).

En un estudio realizado recientemente en la Universidad Autónoma de Barcelona, se compararon diferentes pruebas serológicas comerciales para la detección de la infección y se demostró que el rendimiento de los test ELISA cuantitativos es significativamente superior a los tests “rápidos” o cualitativos. Entre ellos, la mejor prueba comercial para detectar individuos infectados por *Leishmania infantum* es **Leiscan®** *Leishmania* Elisa Test, con un resultado en las medidas individuales de rendimiento del 98% en sensibilidad y precisión y 0.93 en valor predictivo negativo. En las medidas globales, como el área bajo la curva ROC (Receiver Operating Characteristic), fue también significativamente superior a todos los cualitativos (Rodríguez Cortés et al., 2010).

Por tanto, el uso sistemático de la serología cuantitativa, también en perros asintomáticos, se ha demostrado esencial para un buen diagnóstico precoz de la infección, que es la base fundamental para el éxito de la terapia. En base al resultado de la serología, podemos establecer el plan de acción para cada paciente, bien sea terapéutico o preventivo.

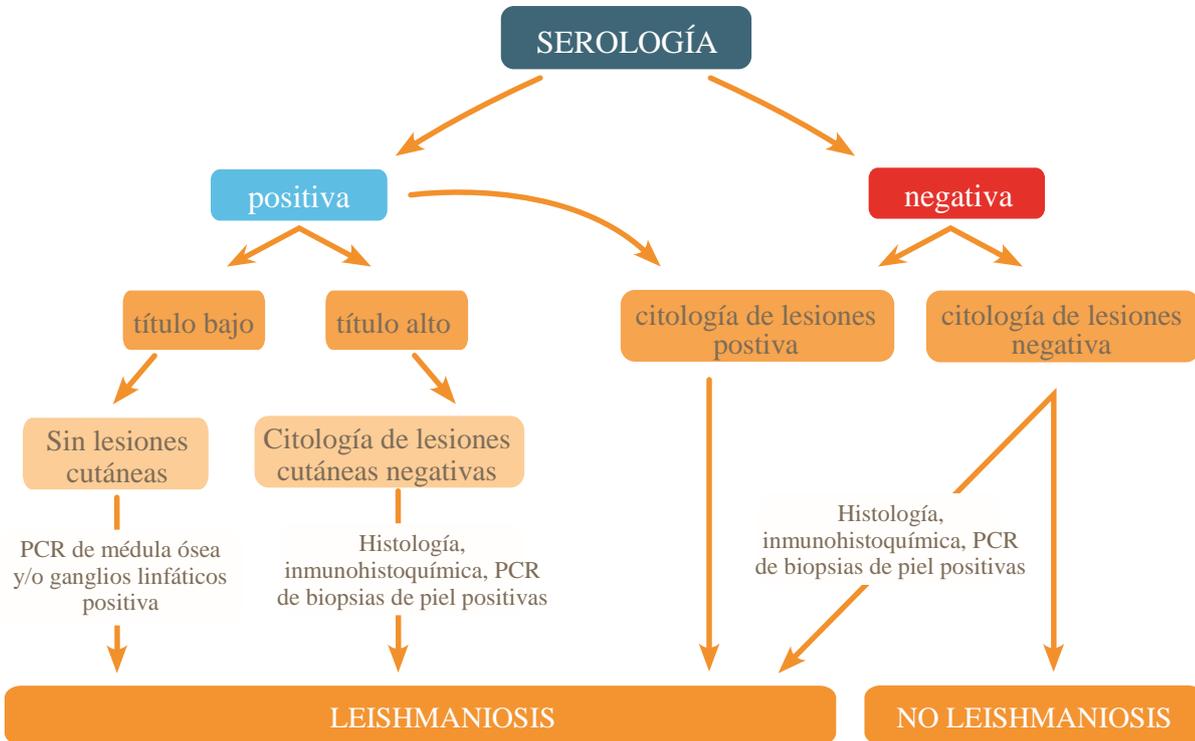
V.4. ¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz positivo?

Como se ha comentado anteriormente, aún en ausencia de otros signos clínicos o pruebas diagnósticas, el resultado de la serología nos permite establecer el protocolo inicial de actuación, especialmente si se ha realizado una valoración cuantitativa, ya que podemos actuar en función del grado de seropositividad (*Figura 32*).

V. ¿Cómo usar Leisguard® en la práctica?

Figura 32.

Diagnóstico serológico de leishmaniosis paso a paso (Ferrer L. y Roura X, 2012).

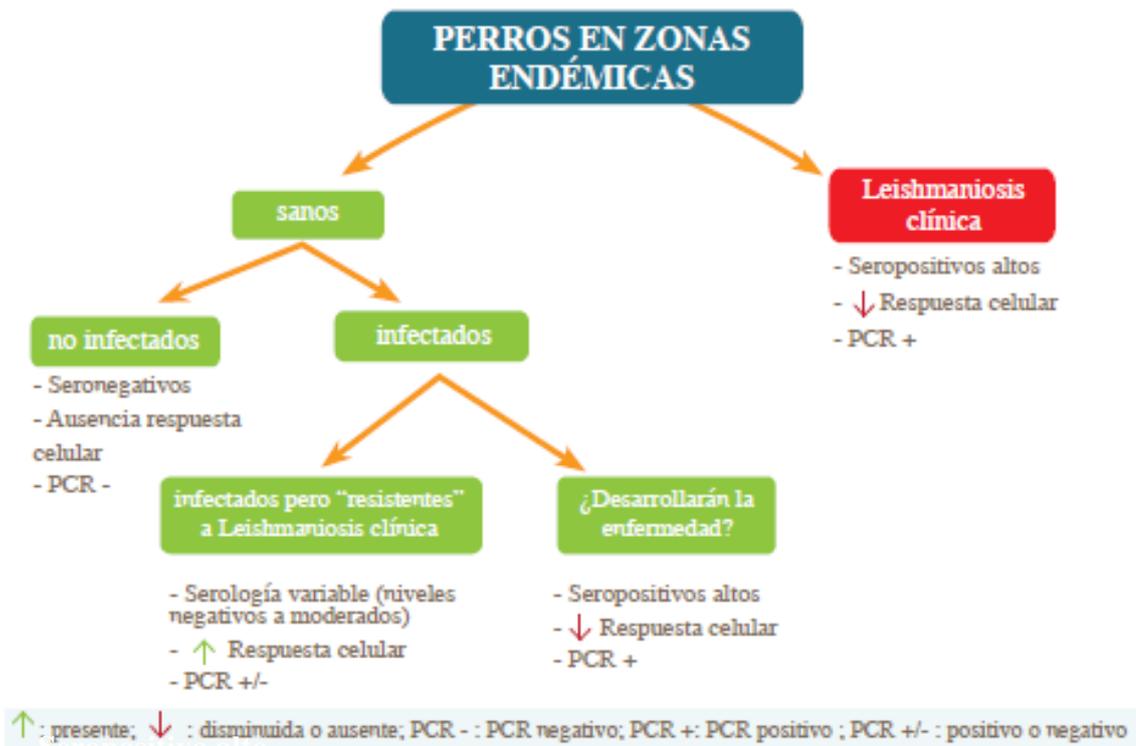


Ante un resultado seropositivo alto (**Leiscan® Rz >1.5; IFI >1/160**), hay que considerar que el paciente puede estar desarrollando la leishmaniosis (Oliva et al., 2006). Por tanto, deben realizarse pruebas complementarias para determinar el estado clínico en que se encuentra. Aparte de un examen clínico completo, debe evidenciarse la presencia del parásito por aislamiento o PCR, valorar posibles alteraciones clinicopatológicas, incluido el proteinograma y la función renal. En función de los resultados de todas las pruebas realizadas se puede determinar el estado clínico del animal y en función de su gravedad escoger el tratamiento más adecuado. En la **Figura 34** se resumen las terapias recomendadas según el estado clínico de cada animal.

Si tras el diagnóstico completo se determina que se trata de perros simplemente expuestos o infectados con una sintomatología leve, el uso de **Leisguard®** como única terapia ha demostrado ser suficiente para reducir la sintomatología clínica y el título de anticuerpos. Sin embargo, si existe una serología elevada, es probable que nos encontremos con casos avanzados y de mayor severidad y con una respuesta inmunitaria celular débil (**Figura 33**).

Figura 33.

Estados clínicos y respuesta inmunitaria de perros residentes en un área endémica de *Leishmania infantum*. (Solano-Gallego et al., 2009).



Seropositivo alto

En estos casos es recomendable reducir la carga parasitaria con productos leishmanicidas o leishmaniostáticos, para a continuación administrar Leisguard® de forma que éste pueda tener el máximo efecto inmunomodulador y mejorar el pronóstico del paciente.

Según las recomendaciones actuales (Solano-Gallego et al., 2011) debe hacerse una reevaluación del paciente tras 30 días de tratamiento con un leishmanicida o leishmaniostático, momento en el cual puede iniciarse una primera tanda de tratamiento con Leisguard® a la dosis y pauta recomendadas (1ml/10kg/24h x 30d). Estos pacientes deben ser reevaluados cada 3-4 meses durante un año y se recomienda repetir el tratamiento con Leisguard® cuatrimestralmente, coincidiendo con los exámenes clínicos de seguimiento. Igualmente debe hacerse un análisis serológico cada 6 meses. Si transcurridos 6-12 meses tras el inicio de la terapia se ha conseguido una estabilización del paciente (mejora clínica evidente, normalización del proteinograma y estabilización o reducción de los niveles de anticuerpos) puede mantenerse al paciente en un programa de prevención de recidivas con Leisguard® tal como se describe más adelante (programa Leispro®).

V. ¿Cómo usar **Leisguard**[®] en la práctica?

Ante un resultado seropositivo bajo (Leiscan[®] Rz 1.1-1.5; IFI 1/80-1/160) y en ausencia de otros signos relacionados con la enfermedad, nos encontramos ante un perro que ha recibido la picadura de *Áebotomos* infectantes y que ha establecido una respuesta inmunitaria frente a la *Leishmania*. Sin embargo, no podemos distinguir si esta respuesta será eÀcaz, tipo Th1, y podrá con el tiempo controlar por sí mismo la enfermedad o si se inclinará hacia una respuesta ineÀcaz tipo Th2.

Hasta la aparición de **Leisguard**[®], en estos casos, la ausencia de un tratamiento capaz de actuar de forma terapéutica y preventiva a la vez, ha hecho que históricamente se recomendara no tratar al paciente y esperar hasta que en un ulterior control se despejaran las dudas en cuanto a su evolución serológica y clínica. Esta estrategia conlleva el riesgo de que la enfermedad avance silenciosamente y que cuando se inicie el tratamiento el animal se encuentre en estadios más avanzados y de pronóstico más incierto. Sin embargo, en el balance riesgo/beneÀcio las recomendaciones vigentes hasta ahora consideraban que el riesgo de tratar con las terapias hasta ahora disponibles en términos de posibles efectos adversos y de generación de resistencias que afectarían tanto a la enfermedad canina como humana, superaban los beneÀcios que se pudieran obtener. No obstante, el cumplimiento de esta recomendación en muchas situaciones clínicas, en las que pueden intervenir otros factores, ha sido desigual.

Con **Leisguard**[®], este conÁicto puede resolverse puesto que su administración en pacientes que han sido expuestos al parásito pero que es dudoso que estén desarrollando la enfermedad sólo puede ayudarles a superarla por si mismos sin generar ningún tipo de resistencia ni efectos secundarios relevantes. Por tanto, el balance riesgo/beneÀcio del uso de **Leisguard**[®] ante cualquier serología baja o dudosa es claramente positivo y puede evitar que en un porcentaje de casos, que actualmente no se pueden conocer de antemano, la enfermedad progrese a estadios más avanzados.

Seropositivo bajo

En estos casos, sin perjuicio de que a criterio del veterinario se realicen otras pruebas diagnósticas complementarias que permitan caracterizar mejor al paciente, **el tratamiento con Leisguard[®], a la dosis y pauta recomendadas (1ml/10kg/24h x 30d), debe iniciarse inmediatamente tras el diagnóstico serológico positivo.** En función del riesgo de la zona y época del año en que se encuentra el animal, es aconsejable **repetir una tanda de tratamiento a los 4 meses de la primera** y, siguiendo las recomendaciones actuales, hacer un **nuevo test serológico a los 6 meses.** En caso de que los títulos de anticuerpos se hayan estabilizado o disminuido y en la ausencia de otros signos, podemos **incluir al paciente en un programa de prevención con Leisguard[®]** tal como se describe más adelante (programa **Leispro**[®]). En caso contrario, debe hacerse una evaluación completa del paciente tal como se ha descrito anteriormente.

V.5. ¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz dudoso?

Si obtenemos un **resultado serológico dudoso (Leiscan[®] Rz 0.9-1.1 o IFI 1/80)** no es posible saber si el perro es seropositivo o no y si no se ha evidenciado la presencia del parásito por otras técnicas lo recomendable es repetir la analítica transcurridos 6 meses para confirmar o descartar el diagnóstico. Aún en el caso de que se trate de animales seropositivos lo serían en un grado muy bajo, lo que indica que probablemente estamos ante una simple infección, bien controlada por el propio sistema inmunitario del animal o bien en un grado todavía muy incipiente.

Dudoso

En cualquiera de los casos, **ante un resultado dudoso es recomendable iniciar el tratamiento preventivo con Leisguard[®]** a la dosis y pauta recomendadas, de forma inmediata. De esta forma aumentamos las posibilidades de que al repetir la serología al cabo de 6 meses nos encontremos con una respuesta inmunitaria efectiva evidenciable a través de la disminución o negativización del título de anticuerpos. Al igual que en el caso anterior, si la evolución del paciente ha sido favorable, puede iniciarse un **programa de prevención con Leisguard[®] adaptado a las circunstancias del perro (programa Leispro[®])**.



Figura 34. Tabla-resumen abordajes terapéuticos en función de la situación clínica

SITUACIÓN CLÍNICA	RESULTADO SEROLOGÍA	SIGNOS CLÍNICOS	ALTERACIONES CLÍNICO-PATOLÓGICAS	TERAPIA	SEGUIMIENTO	¿POR QUÉ LEISGUARD®?
Expuestos, infectados o con enfermedad leve	+/-	Asintomático o Linfadenopatía, dermatitis papular o exfoliativa	Sin alteraciones Perfil renal normal (Creatinina < 1.4 mg/dl; UPC < 0.5)	leisguard® (1ml/10 kg/24h x 30d)	Repetir leisguard® a los 4 meses. leisScan® y reevaluación clínica a los 6 m. Si controlado → Programa preventivo leispro según riesgo. Si leisScan® 6 m > inicial. Reevaluación completa.	No hay certeza absoluta de que estos perros estén enfermos, pero no podemos saber si están en el inicio de un proceso clínico con riesgo de agravamiento. leisguard® ayudará a que se establezca una respuesta efectiva tipo Th1, si fuera necesaria. Si leisScan® a los 6 m ≤ al inicial, el programa preventivo leispro® protegerá a estos perros de futuras exposiciones al parásito.
Leishmaniosis clínica moderada	+ / +++	+ Dermatitis exfoliativa, onicogriafosis, ulceraciones, anorexia, pérdida de peso, epistaxis, fiebre	Anemia no regenerativa, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia. Hiperviscosidad sérica Perfil renal normal (Creatinina < 1.4 mg/dl; UPC < 1)	Leishmanicida y/o Leishmaniostático	Reevaluación clínica a los 30d. Continuación: leisguard® (1ml/10 kg/24h x 30d). Reevaluación clínica cada 3-4 meses + leisguard® cuatrimestral x1 año. leisScan® cada 6 m Si controlado: Programa preventivo leispro® según riesgo.	La respuesta inmune de estos perros se ha desequilibrado con predominio Th2 y tienden a agravarse. El tratamiento con leishmanicidas baja inicialmente la carga parasitaria, pero leisguard® reequilibrará la respuesta inmune hacia Th1 para que la respuesta inmune del animal se establezca a más largo plazo. Si leisScan® y los controles clínicos semestrales muestran una estabilización del paciente, el programa preventivo leispro protegerá a estos perros de eventuales recidivas o de nuevas exposiciones al parásito.
Leishmaniosis clínica severa	++/+++	+ lesiones por inmunocomplejos: uveítis, artritis, glomerulonefritis	+ enfermedad renal crónica IRIS I UPC >1 ó IRIS II (Creatinina 1.4-2 mg/dl)	Leishmanicida y/o Leishmaniostático + IRIS para el riñón		
Leishmaniosis clínica grave	++/+++	+ tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótico	+ enfermedad renal crónica IRIS III (Creatinina >5 mg/dl. UPC >5)	Leishmaniostático + IRIS para el riñón		leisguard® contribuirá a reequilibrar la respuesta inmune hacia Th1, sin dañar el riñón.

V.6. ¿Qué hacer tras un diagnóstico precoz negativo?

En el caso de un resultado serológico negativo (Leiscan® Rz <0.9; IFI <1/80) y en ausencia de otros signos o alteraciones clinicopatológicas, nos encontramos con un paciente sano pero del que no podemos saber si cuando contacte con Áebotomos infectantes controlará la infección por sí mismo o si acabará desarrollando la enfermedad. En estos casos, podemos contemplar un programa preventivo, combinando el uso estratégico de **Leisguard®** con una monitorización serológica con **Leiscan®**, ajustado a las características de la zona y al modo de vida del paciente (Programa **Leispro®**).

Valorar el riesgo

Si el perro vive en una zona endémica, está en riesgo de contraer la enfermedad. En estos casos, el factor principal que debe preocuparnos es la prevalencia de la zona en que reside y el período estacional en que pueden encontrarse Áebotomos infectantes. A mayor prevalencia y período estacional más largo mayor es el riesgo de contacto entre el perro y el vector y, por tanto, mayor es el riesgo de contagio.

En estudios epidemiológicos se han determinado las prevalencias de diferentes zonas endémicas que son de gran ayuda para la toma de decisiones de gestión del riesgo (en el apartado VIII se muestran los datos hasta ahora disponibles). De forma aproximada Franco et al. (2011) proponen tres **grados de seroprevalencia: Baja (<5%), Media (5-20%) o Alta (>20%)** que hemos tomado como referencia para la toma de decisiones.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que pueden encontrarse grandes diferencias en prevalencia entre poblaciones caninas muy similares que viven a pocos kilómetros de distancia debido a las variables ambientales que determinan la abundancia de Áebotomos en un área determinada (Cardoso et al., 2004a) por lo que es importante conocer las características epidemiológicas de la zona donde reside el paciente.

La **densidad de Áebotomos** juega un papel fundamental en la aparición y diseminación de la enfermedad (Martín Sánchez et al., 2009). Los Áebotomos crían en zonas donde se acumula materia orgánica y conservan una humedad relativamente alta (madrigueras de animales, pie de árboles y arbustos) y en ambientes humanizados que cumplen con esas condiciones, como leñeras, granjas, jardines, alcantarillas, basureros, etc. En ambientes humanizados pero con abundancia de zonas verdes (ej. zonas residenciales de la periferia de las ciudades) es donde se encuentra una mayor densidad de Áebotomos y por tanto el riesgo de transmisión en estas zonas aumenta hasta en un 70% (Nieto 2004)

V. ¿Cómo usar Leisguard® en la práctica?

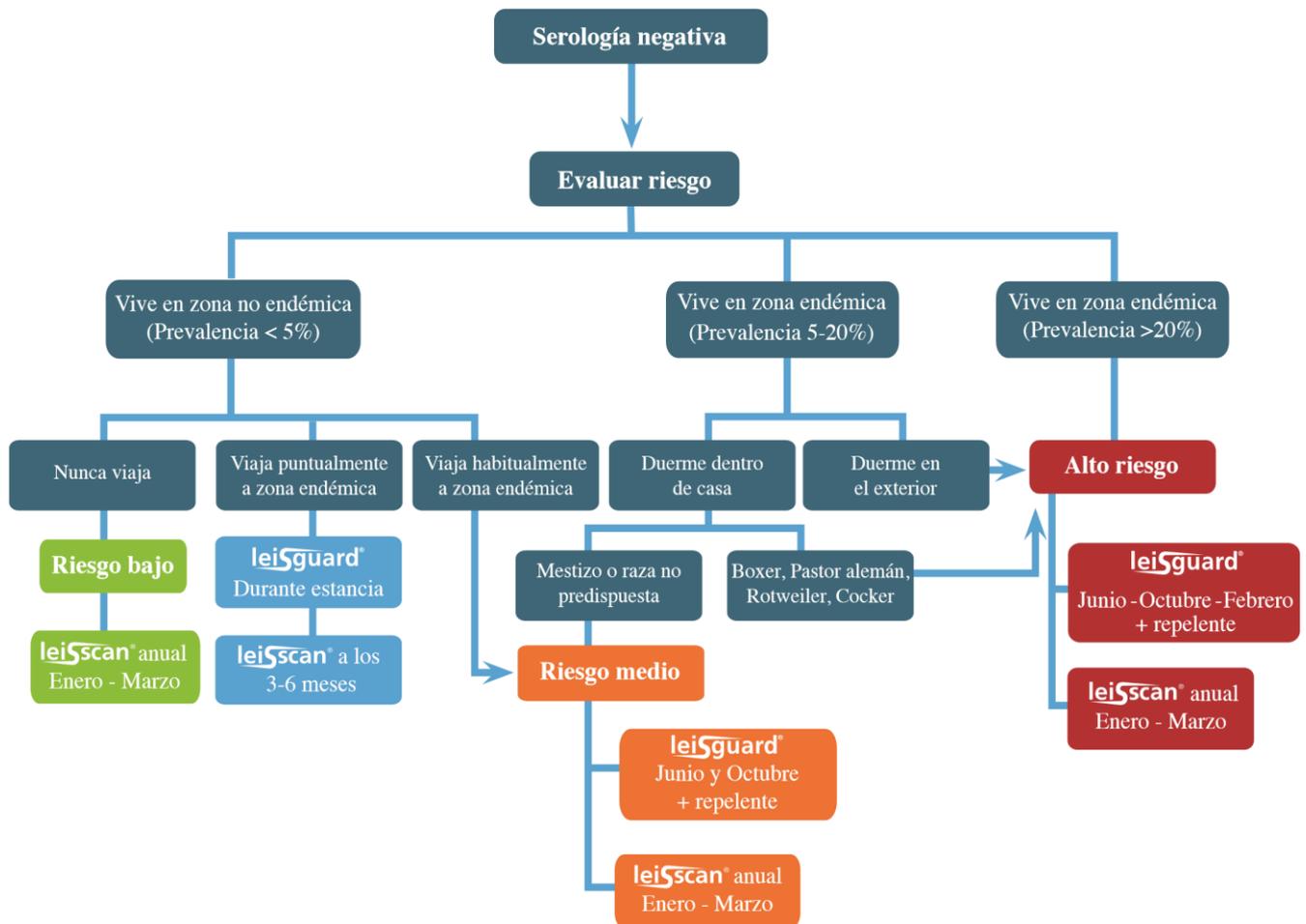
Hay que tener en cuenta que aunque las poblaciones de *Áebotomos* son altas al principio del verano (Junio-Julio), éstos son poco infectantes, puesto que ha habido poco tiempo para que extraigan el parásito de perros ya infectados. En cambio, los *Áebotomos* que puedan vivir al Ànal de la estación (Ànales de Septiembre y todo Octubre) es más probable que sean infectivos, por lo que el riesgo de contagio es mayor. En función del clima, el **período de actividad** está muy condicionado y varía según los años (Lucientes 2004, Oliva et al 2006). En las áreas más meridionales, el *Áebotomo* puede entrar en actividad a Ànales de Febrero y terminar a principios de Diciembre, mientras que en zonas septentrionales comienza en Mayo y acaba a principios de Noviembre (Lucientes 2004). Con la altitud aumentan las precipitaciones y disminuye la temperatura por lo que se dan peores condiciones para la presencia de *Áebotomos* (Gálvez et al., 2011).

Sin embargo la presencia de *Áebotomos* no es el único factor de riesgo que debemos tener en cuenta en la prevalencia de una zona. Adicionalmente hay que considerar otros factores como la raza y el modo de vida del perro. Se ha descrito que las **razas** puras y particularmente el Boxer, Rottweiler, Cocker Spaniel y Pastor Alemán son especialmente sensibles, mientras que los mestizos de zonas endémicas y razas particulares como el Podenco Ibicenco son más resistentes (Nieto 2004, SolanoGallego et al., 2011). En cuanto al **modo de vida** tiene una importancia fundamental si el perro vive predominantemente en el exterior o en el interior de la vivienda y particularmente si lo hace durante las horas nocturnas (Sousa et al., 2011). Desde la puesta del sol hasta la media noche son las horas de mayor actividad del *Áebotomo* (Lucientes 2004). Por tanto si el perro duerme fuera de casa hace que el riesgo de contagio (Odds Ratio) sea 3.3 veces mayor que si durmiera dentro. Por este motivo, los perros de guardia muestran un riesgo de infección 3-4 veces mayor. La residencia en un ambiente urbano también es un factor de riesgo respecto a las zonas rurales, probablemente debida a la existencia de jardines y de una mayor densidad de perros (Cortés et al., 2007, Martín Sánchez et al., 2009, Sousa et al., 2011).

Finalmente, el **estado nutricional** es un factor determinante para el establecimiento de la enfermedad debido a su efecto directo sobre el estado inmunológico del hospedador (Nieto 2004). Se han descrito casos en que animales con leishmaniosis clínica que estaban expuestos a situaciones de desnutrición (ej. por competencia de otros perros en colectividades), se curan simplemente con una buena alimentación. Este es también uno de los motivos por los que la leishmaniosis humana afecta predominantemente a países pobres con elevadas tasas de malnutrición (WHO 2010).

En cualquiera de las situaciones de riesgo descritas se puede utilizar **Leisguard®** de forma efectiva a modo de prevención. Sin embargo, la pauta a recomendar debe establecerse teniendo en cuenta estos factores y de acuerdo con el árbol de decisión descrito en la **(Figura 35)**.

Figura 35. Recomendaciones del uso preventivo de Leisguard® según el riesgo de infección (animales seronegativos).



Negativo

En caso de serología negativa, tendremos que tener en cuenta de forma primordial el grado de prevalencia de cada zona. (Baja <5%, Media 5-20% o Alta >20%). En función de esta clasificación, se proponen diferentes actuaciones que pretenden servir de orientación para el veterinario clínico (programa preventivo Leispro®). En este sentido es conveniente utilizar la información sobre el grado de prevalencia más reciente que haya disponible en el área donde reside el perro o bien generarla a partir de la consolidación de los resultados de los tests de screening serológicos en una misma zona o clínica veterinaria.

Si bien puede variar en función de los criterios utilizados, diversos estudios epidemiológicos muestran que aproximadamente el 50% de los animales seropositivos muestran algún síntoma o alteración clínicopatológica relacionada con la enfermedad (Gálvez et al., 2010; Marty et al., 2007; Solano-Gallego et al., 2001; Brandonisio et al., 1992). Por tanto, a partir del porcentaje de perros con leishmaniosis clínica también se podría extrapolar, de forma orientativa, cuál puede ser la prevalencia de la enfermedad en un colectivo determinado.

Zona no endémica (Prevalencia baja <5%)

En zonas con condiciones climatológicas adversas para que existan elevadas densidades de *Áebotomos* o en que la densidad de perros es muy baja, nos encontramos con muy poca población de perros seropositivos. Esto hace que el riesgo de contraer la enfermedad mediante el contacto con el vector en los perros residentes en estas áreas sea bajo. Sin embargo, en estas zonas suelen aparecer casos de leishmaniosis en que el perro se contagió tras una estancia más o menos larga en una zona endémica. Adicionalmente, en los últimos tiempos se han descrito vías de contagio diferentes como la materno-fetal (Nieto 2004) o por transfusiones sanguíneas (SolanoGallego et al., 2011) o picaduras de garrapatas (Podaliri et al., 2011) que podrían tener lugar igualmente en estas zonas a pesar de que su incidencia sea mucho menor a la transmisión por medio del *Áebotomo*.

Por tanto, si el perro reside en esta zona sin viajar nunca a zonas de riesgo es muy improbable que contacte con el parásito. En estos casos, sin embargo, es igualmente recomendable realizar un test serológico una vez al año. De esta manera podremos actuar rápidamente en caso de contagio por cualquier vía sin necesidad de administrar ningún tipo de producto al perro. En general, se recomienda la realización de un test serológico en invierno, preferiblemente entre Enero y Marzo, puesto que ya habrá transcurrido un tiempo suficiente desde la estación del *Áebotomo* para poder seropositivar en caso de un eventual contagio.

V. ¿Cómo usar Leisguard® en la práctica?



Mayo Junio Julio Agosto Septiembre Octubre Noviembre Diciembre Enero Febrero Marzo Abril

leisScan®

El caso del perro viajero

En caso de que el perro residente habitualmente en esta zona realice frecuentes incursiones en zonas endémicas, por ejemplo los Ænes de semana, será necesario aplicar un programa preventivo acorde con la prevalencia de estas zonas y no la de la residencia habitual. Si la visita a zona endémica es puntual, por ejemplo en vacaciones de verano, deberá aplicarse un programa preventivo acorde. En este caso se recomienda tratar con **Leisguard®** durante toda la estancia en zona de riesgo. Según los datos de activación celular disponibles, el efecto inmunomodulador de la domperidona ya es evidente a los 5 días tras el inicio de la terapia (Gómez Ochoa et al., 2004), pudiendo ocurrir de forma incluso más temprana. Por tanto, en la práctica, el tratamiento preventivo con **Leisguard®** puede ser simultáneo a la llegada a la zona de riesgo. No obstante, aunque la estancia en la zona endémica pueda ser más corta, es necesario mantener el tratamiento hasta completar la pauta recomendada de 30 días consecutivos.

Si la estancia se prolonga durante más de un mes, puede establecerse un segundo período de tratamiento dejando un máximo de 3 meses de descanso entre ambos. Adicionalmente, se recomienda realizar un test serológico a los 3-6 meses tras regresar del período vacacional para detectar cualquier indicio de infección.

Zona endémica (Prevalencia media 5-20%)

En el caso de los perros que viven en zonas endémicas con una prevalencia de entre el 5 y el 20% será necesario tomar medidas para evitar el contagio. Estos perros se encuentran en evidente riesgo de contagio, incluso si hacen poca vida en el exterior. En estas áreas, la época de actividad del Áebotomo se suele extender entre Mayo y Octubre, aunque pueda haber variaciones de un año a otro por cuestiones climatológicas.

En estos casos es recomendable instaurar un programa preventivo con **Leisguard®** consistente en dos tratamientos anuales uno al principio de la estación epidemiológica y otro al Ænal, típicamente en Junio y Octubre. Este programa ha demostrado ser eÆcaz para reducir drásticamente el riesgo de contraer la enfermedad en las pruebas clínicas descritas anteriormente.

Adicionalmente, se recomienda la utilización de insecticidas repelentes (bien sean en forma de collar o spot-on) que, actuando de forma independiente, tienen un efecto complementario que hace que el riesgo de contraer la enfermedad sea aún menor.

Puesto que no hay ninguna prevención eficaz al 100% no hay que descuidar el

diagnóstico precoz, ya que nos ofrece la posibilidad de intervenir con mayores garantías de éxito en caso necesario. Tal como se ha descrito anteriormente, el momento que sería idóneo para efectuar un screening serológico en estas zonas sería en invierno, preferiblemente entre Enero y Marzo. En este sentido hay que recordar que **Leisguard**[®] no tiene un efecto preventivo sobre la picadura del Áeotomo, sino que evita el desarrollo clínico de la enfermedad. Por tanto el hecho de encontrar seropositividad baja en un perro que siga el programa de prevención sólo indica que ha entrado en contacto con el parásito, pero no que esté desarrollando la enfermedad.



Zona endémica (Prevalencia alta >20%)

En zonas donde se han descrito prevalencias muy altas (>20%) con un hábitat y climatología favorables a la multiplicación de los Áeotomos así como una alta densidad de perros. Estas circunstancias hacen que se puedan encontrar Áeotomos infectantes hasta muy entrado el otoño y desde el inicio de la primavera, sin que exista una estación epidemiológica bien definida. Por tanto, en estas zonas es necesario establecer un programa de prevención más intensivo consistente en administrar **Leisguard**[®] con una frecuencia cuatrimestral. En la mayoría de los casos correspondería con tratamientos en Junio, Octubre y Febrero. Esta pauta ha demostrado su eficacia en las pruebas clínicas explicadas anteriormente en las que la probabilidad de infección se redujo 7.2 veces.

Esta pauta sería igualmente aconsejable para aquellos perros que aún viviendo en zonas de menor prevalencia, estén sometidos a factores de riesgo adicionales, principalmente el modo de vida en el exterior en las horas nocturnas (ej. perros de guardia) o bien sean de alguna de las razas descritas como especialmente sensibles.

En estas zonas de alto riesgo existe una gran exposición al Áeotomo durante casi todas las épocas del año, por tanto es conveniente no descuidar otras medidas preventivas, como el uso de insecticidas repelentes y procurar evitar que el perro frecuente o duerma en zonas con presencia de Áeotomos en horas nocturnas.

V. ¿Cómo usar **Leisguard**[®] en la práctica?

En este sentido, hay diversos estudios que atribuyen al uso de collares o productos spot-on a base de permetrinas una notable eficacia preventiva debido a su efecto repelente sobre los Áeotomos (Ferroglio et al., 2008; Miró et al., 2007a; Foglia Manzillo et al., 2006). Teniendo en cuenta que el efecto de estos productos al reducir la exposición de los perros a las picaduras de los Áeotomos es independiente del efecto inmunomodulador de **Leisguard**[®], es posible calcular el efecto que tendría su uso combinado. A este respecto, y teniendo en cuenta los resultados de los estudios de Foglia Manzillo et al., (2006) y Llinás et al., (2011a), ambos llevados a cabo en zonas de alta prevalencia, la eficacia preventiva atribuible al uso de collares junto a **Leisguard**[®] en su pauta cuatrimestral llegaría a ser del 98%. Por tanto, es altamente recomendable combinar cualquiera de los productos repelentes registrados junto con **Leisguard**[®] para alcanzar un grado de protección prácticamente completo.

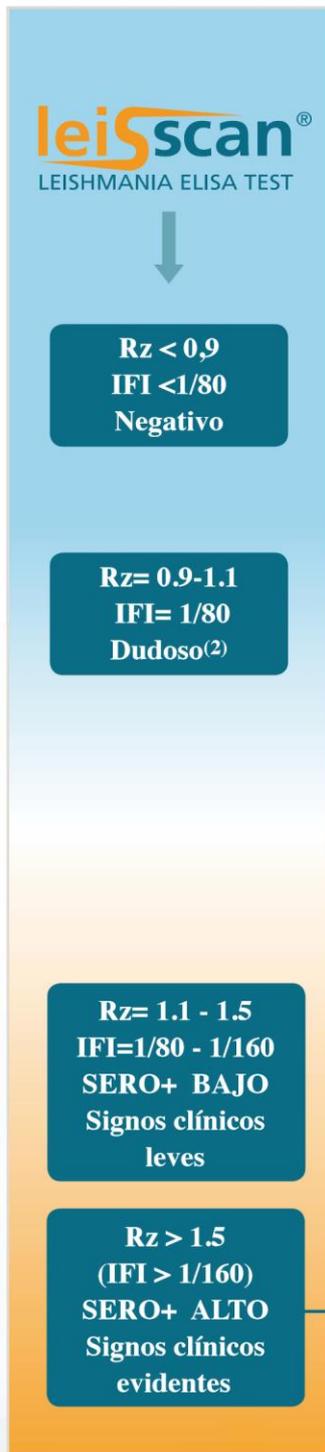
Finalmente, aún con estas medidas implementadas, es recomendable realizar un test serológico una vez al año, para poder actuar rápidamente ante cualquier indicio de infección.



Programa

El auténtico control

PREVENCIÓN



TRATAMIENTO



- (1) Alto riesgo: perro que duerme fuera de casa o de raza sensible (Boxer, Rottweiler, Pastor alemán, Cocker).
(2) Dudosos: Repetir LEISCAN® a los 6 meses.
(3) Perros que viajan a zona endémica: Viaje Puntual: LEISGUARD® durante la estancia / Viaje Habitual: LEISGUARD® según prevalencia y riesgo.
(4) Utilizar un repelente de flebotomos registrado para tal uso que cubra el período estacional (mínimo período a cubrir Mayo- Octubre).

leiSpro[®]

de la Leishmaniosis

leiSscan[®]
LEISHMANIA ELISA TEST



↑
leiSguard[®]

↑
leiSguard[®]

tratamiento adicional en Febrero

leiSscan[®]
LEISHMANIA ELISA TEST

MES 6



Reevaluación
clínica

LEISCAN[®]
+
SIGNOS
CLÍNICOS
+
ANALÍTICA



A leiSpro[®]
PREVENCIÓN



Mantener
leiSpro[®]
TRATAMIENTO



Reevaluación
clínica
completa

VI. Preguntas más frecuentes

- *Si una perra que recibe tratamiento con **Leisguard**[®] en la pauta preventiva se queda gestante, ¿debo seguir administrando el producto o es mejor dejar de tratar?* Tal como se especifica en el prospecto, los estudios efectuados en animales de experimentación no mostraron ningún efecto adverso durante la gestación, sin embargo, no existen suficientes estudios bien controlados en perras gestantes por lo que debe hacerse una valoración riesgo/beneficio por parte del veterinario. Dentro de esta valoración debe incluirse el nivel de riesgo en que se encuentra la perra, teniendo en cuenta principalmente la prevalencia de la zona, la época del año, la raza y si duerme en el exterior.

- *Si una perra que recibe tratamiento con **Leisguard**[®] en la pauta preventiva le corresponde una tanda de tratamiento durante la lactación, ¿debo seguir administrando el producto o es mejor dejar de tratar?*

No se han realizado estudios específicos en perras en lactación. Sin embargo, en otras especies, incluida la humana, se ha demostrado un aumento de la producción láctea cuando se trata en estos períodos, por lo que es probable que el tratamiento de una perra lactante con **Leisguard**[®] induzca el mismo efecto. Por otra parte, durante la lactación se produce un aumento fisiológico de la prolactinemia que podría otorgar por sí misma un grado de protección adecuado frente a la leishmaniosis. Por tanto, si la producción de leche de la perra es normal, puede saltarse la tanda de tratamiento durante este período o, en función del nivel de riesgo y de la época del año, esperar a que concluya la lactación para retomar el tratamiento con **Leisguard**[®].

- *En un animal enfermo, ¿puedo administrar **Leisguard**[®] junto a otras medicaciones?*

No es conveniente la administración junto con antiácidos como el omeprazol o la cimetidina. No debe usarse con dopaminérgicos como la dopamina o la dobutamina y es antagonista de la cabergolina. En las pruebas clínicas realizadas hasta ahora, no se han descrito interacciones con otras medicaciones.

Desde el punto de vista de su eficacia, el mecanismo de acción de **Leisguard**[®] es completamente independiente del de los productos leishmanicidas o leishmaniostáticos habitualmente utilizados en perros.

De hecho, se han descrito tratamientos junto con Alopurinol en los que se ha observado una buena respuesta sin que haya aparecido efecto adverso alguno.



- En el uso preventivo, ¿qué es más recomendable, el uso de **Leisguard**[®] o de vacunas frente a *Leishmania*?

La base de ambos tratamientos es similar, puesto que los dos están enfocados a la mejora de la respuesta inmunitaria celular efectiva frente a la leishmaniosis y prevenir así que el perro desarrolle la enfermedad clínica.

La principal diferencia es que las vacunas llevan un antígeno que provocará un cierto grado de producción de anticuerpos específicos aunque el animal no esté infectado, mientras que **Leisguard**[®] incrementa la respuesta inmunitaria sin generar por sí misma una respuesta serológica. La producción de anticuerpos tras la vacunación conlleva la posibilidad de interferencias en el diagnóstico serológico de los perros (EMEA 2011). Por tanto, la vacunación puede hacer disminuir la eficacia de las campañas de detección precoz. **Leisguard**[®] no interfiere con la serología, por lo que permite la detección de perros seropositivos de forma más precoz, sencilla y segura que si éstos estuvieran vacunados.

Por otra parte, el uso de vacunas en animales seropositivos no está indicado, siendo muy recomendable el uso de **Leisguard**[®] en estos casos.

En cuanto a la eficacia clínica en zonas de alta prevalencia **Leisguard**[®] ha demostrado una eficacia preventiva* del 80%.

Por otro lado, la ‘probabilidad’ o “riesgo” de desarrollar leishmaniosis clínica (calculada en términos de oportunidad u Odds**) es 7.2 veces inferior en los animales tratados con **Leisguard**[®] que en los no tratados.

Finalmente la activación celular protectora se produce antes de los 5 días tras iniciar el tratamiento con **Leisguard**[®].

* Eficacia real atribuible al programa de tratamiento una vez descontados los casos que sin ser tratados/ vacunados tampoco hubieran contraído la enfermedad.

** ‘Probabilidad’ que tiene un perro de enfermar respecto a no enfermar en función de si está tratado/vacunado o no lo está.

VI. Preguntas más frecuentes

*-¿Puedo combinar el tratamiento con **Leisguard**[®] junto a vacunas de *Leishmania*?*

Tanto **Leisguard**[®] como las vacunas frente a *Leishmania* persiguen la activación de la respuesta inmune celular. Sus mecanismos de acción son compatibles y es probable, aunque no se han hecho estudios que lo demuestren fehacientemente, que su uso conjunto aumente la eÀcacia de ambos.

Por otra parte, la protección por activación celular mediante **Leisguard**[®] se produce antes de los 5 días tras iniciar el tratamiento, la más precoz disponible. Por tanto, el uso de **Leisguard**[®] durante el programa de primovacunación también podría aportar una protección mucho más temprana que puede ser muy necesaria si se vacuna durante la estación de abundancia de Áeptomos.

*-¿Hay diferencias de eÀcacia según la hora del día en que se administre **Leisguard**[®]?*

En perros, a diferencia de los humanos, no se ha descrito un ritmo circadiano claro de las concentraciones plasmáticas de prolactina, por lo que no hay ningún momento del día más adecuado que otro para tratar. Por otra parte, los picos de prolactina alcanzados con el tratamiento con **Leisguard**[®] son muy superiores a los basales (en ausencia de lactación), por lo que su efecto es independiente de pequeñas variaciones en la prolactinemia basal.

*- ¿A partir de que edad se puede administrar **Leisguard**[®]?*

Leisguard[®] es un fármaco muy seguro tanto en adultos como en cachorros y no es necesario esperar a alcanzar una edad mínima para iniciar el tratamiento. Desde el punto de vista de eÀcacia podemos obtener una protección adecuada desde las primeras semanas de vida debida al efecto de **Leisguard**[®] sobre la inmunidad innata. De hecho, se ha descrito que la prolactina juega un papel fundamental en el desarrollo y maduración del sistema inmunitario de los mamíferos (Swarko-Sonta, 1992).

-¿Tiene inconvenientes reducir la respuesta Th2?

En perros infectados, **Leisguard**[®] aumenta la respuesta Th1, pero no elimina la respuesta Th2. Al igual que ocurre en perros resistentes a la enfermedad, se produce un reequilibrio entre ambas respuestas, de modo que sigue existiendo cierto grado de respuesta humoral conviviendo con la respuesta celular efectiva. En estudios específicos, se ha demostrado que **Leisguard**[®] no influye en la rapidez ni la intensidad de seroconversión tras el uso de las vacunas víricas habituales en cachorros (Salichs et al., 2006a, Salichs et al., 2006b).

*-¿Podemos provocar hiperprolactinemia por administrar **Leisguard**[®]?*

El uso de **Leisguard**[®] a la dosis y pautas recomendadas provoca aumentos de prolactinemia completamente reversibles (picos), de modo que no se produce acumulación ni hiperprolactinemia mantenida en el tiempo. Estos picos de prolactina son los responsables de la activación de la inmunidad celular protectora frente a la infección por *Leishmania* y son de una magnitud muy inferior a los que se encuentran en una perra lactante, volviendo cada día a sus niveles basales. Por ello, es muy raro que se induzcan efectos indeseables en los animales tratados.

Sin embargo, si se utilizan dosis más altas, o pautas distintas, es posible que se produzca una alteración en la magnitud de los picos diarios de Prolactina que podría afectar la eficacia del tratamiento. Igualmente, dosis inferiores pueden ser insuficientes para que se produzca una liberación completa de la prolactina hipofisaria. Por lo tanto, es necesario ajustar la dosis al peso del animal a tratar y respetar al máximo la pauta de administración recomendada.

- ¿Podemos alterar los niveles de otras hormonas además de la prolactina? Debido a su efecto antidopaminérgico, se ha observado que en humanos se produce un cierto aumento de la TSH que no ha mostrado ninguna relevancia clínica. Por otra parte, se ha demostrado que no afecta a los niveles de 18-hidroxycorticosterona, cortisol, renina, angiotensina, aldosterona ni la hormona del crecimiento.

- ¿Es cierto que la domperidona puede inducir alteraciones cardiacas?

En algunos estudios realizados en humanos se ha observado que cuando se administra por vía intravenosa a dosis más elevadas que la recomendada para **Leisguard**[®] puede aumentar el riesgo de prolongación del intervalo QT y arritmias ventriculares. Sin embargo, en estudios específicos llevados a cabo en perros no se ha observado ningún efecto a nivel cardíaco administrando dosis muy superiores a la recomendada ni siquiera cuando se administra por vía intravenosa.

VI. Preguntas más frecuentes

- *¿Puedo administrarle **Leisguard**[®] a una perra que haya sufrido episodios de pseudogestación?*

Sí, pero debe usarse con precaución ya que es probable que en estos pacientes se alcancen niveles de prolactina más altos, de forma que podrían llegar a inducir algún grado de galactorrea. Si este signo se presenta de forma leve es aconsejable completar el tratamiento ya que es indicativo de que se están obteniendo niveles de prolactina protectores. Si se presentan de forma marcada y no desaparecieran al interrumpir el tratamiento puede administrarse cabergolina para normalizar al paciente. Sin embargo, nunca debe administrarse cabergolina y **Leisguard**[®] de forma concomitante ya que tienen efectos antagónicos.

- *¿Podemos administrar **Leisguard**[®] durante períodos inferiores a 30 días sin que ello afecte a su eÀcacia clínica?*

El efecto de **Leisguard**[®] sobre la activación transitoria de las células fagocíticas se observa desde poco tiempo después de iniciarse el tratamiento. Sin embargo, la orientación del sistema inmunológico hacia una respuesta duradera, de tipo predominantemente celular (Th1), tiene lugar de forma progresiva y sólo se manifiesta de forma significativa hacia el Ànal de los 30 días consecutivos de tratamiento. Por este motivo, en todos los estudios llevados a cabo durante el desarrollo clínico de **Leisguard**[®] se administró durante 30 días, no existiendo ningún estudio que demuestre la eÀcacia de tratamientos más cortos.

En consecuencia, no debe acortarse el período de tratamiento recomendado ya que ello podría comprometer su eÀcacia.

- *¿Qué pasa si se interrumpe un tratamiento durante algún día?*

El efecto estimulante de **Leisguard**[®] sobre la respuesta inmune se produce a consecuencia de la repetición de los picos transitorios de prolactina que tienen lugar a diario, tras la administración de cada dosis de producto. La interrupción puntual del tratamiento (dos o tres dosis como máximo) no debería afectar de forma significativa a la eÀcacia del mismo. En este caso se recomienda retomar lo antes posible el tratamiento y administrar las dosis que falten hasta completar los 30 días de tratamiento.

Sin embargo, en caso de que la interrupción supere las tres dosis consecutivas, no se puede garantizar la eÀcacia Ànal del tratamiento, por lo que se recomienda iniciar un nuevo tratamiento completo, de 30 días consecutivos, con **Leisguard**[®].

- ¿Puede **Leisguard**[®] inducir la aparición de enfermedades autoinmunes?

El incremento de los niveles sanguíneos de prolactina por encima de los valores fisiológicos y de forma sostenida durante mucho tiempo (hiperprolactinemia) ha sido efectivamente relacionado con la aparición de enfermedades autoinmunes. Sin embargo, para alcanzar estos niveles, es necesario que aumente no sólo la liberación, sino también y de forma significativa, la síntesis de prolactina.

La administración de **Leisguard**[®] produce un pico reversible de prolactina dentro de un rango fisiológico (muy por debajo de los niveles que se alcanzan durante la lactación), que retorna a sus niveles basales a diario, sin que tenga lugar ninguna acumulación de dicha hormona. Ello se debe a que **Leisguard**[®] no actúa estimulando la síntesis de prolactina sino que únicamente produce la liberación de la prolactina acumulada cada día en la hipófisis de manera fisiológica.

Consecuentemente, no existe ninguna base para relacionar la administración de **Leisguard**[®] con la aparición de enfermedades autoinmunes, no habiéndose reportado ningún caso ni en la especie humana ni en el perro a pesar del amplio uso de la domperidona en ambas especies desde hace décadas.

VII. Ficha Técnica

Leisguard® 5 mg/ml suspensión oral para perros

Cada ml contiene:

Sustancia activa:

domperidona 5 mg

Excipientes:

Para-Hidroxibenzoato de metilo (E 218) _____ 1.80 mg

Para-Hidroxibenzoato de propilo (E 216) _____ 0.20 mg Amarillo de
quinoleína (E 104) _____ 0.20 mg

FORMA FARMACÉUTICA

Suspensión oral

Suspensión de color amarillo

DATOS CLÍNICOS

Especies de destino Perros

Indicaciones de uso

1. Reducción del riesgo de desarrollar una infección activa de leishmaniosis y la enfermedad clínica en caso de contacto con *Leishmania infantum*, mediante la estimulación de la inmunidad celular específica.

La eficacia del producto ha sido demostrada en perros sometidos a múltiples exposiciones naturales al parásito en zonas con alto riesgo de infección.

2. Control de la progresión de la leishmaniosis canina en las primeras fases de la enfermedad (perros con un título bajo o moderado de anticuerpos y signos clínicos leves como linfadenopatía periférica o dermatitis papular).

Contraindicaciones

No usar cuando la estimulación de la motilidad gástrica pudiera ser peligrosa, por ejemplo, en caso de hemorragia gastrointestinal, obstrucción mecánica o perforación digestiva.

No usar en animales con hipersensibilidad conocida a la domperidona o a algún excipiente.

No usar en animales con un tumor hipofisario secretor de prolactina.

Dado que la domperidona se metaboliza en el hígado, ésta no debe administrarse a pacientes con insuficiencia hepática.

Advertencias especiales

En caso de infecciones graves, debería instaurarse el tratamiento etiológico oportuno para disminuir la carga parasitaria antes de considerar un tratamiento con este medicamento veterinario. En todos los casos, y teniendo en cuenta la gran variabilidad en la evolución de la enfermedad, se recomienda un estrecho seguimiento del paciente para adaptar el tratamiento a la fase clínica en la que se encuentre el animal, según sea necesario.

Precauciones especiales para su uso en animales

La administración de este medicamento veterinario produce una elevación transitoria de la prolactina plasmática que podría inducir alteraciones endocrinas como galactorrea. Por lo tanto, debe usarse con precaución en animales con episodios previos de pseudogestación.

Precauciones específicas que debe tomar la persona que administre el medicamento a los animales

Las personas con hipersensibilidad conocida a la domperidona o a algún excipiente deben evitar todo contacto con el medicamento veterinario.

En caso de ingestión accidental, consulte con un médico y muéstrele el prospecto o la etiqueta.

Si después de la exposición a este medicamento experimenta síntomas, como una erupción cutánea, debe consultar con un médico y mostrarle esta advertencia. La hinchazón de la cara, los labios o los ojos, así como la dificultad para respirar son síntomas más graves que requieren atención médica urgente.

No fume, coma ni beba mientras manipule el producto.

VII. Ficha Técnica

Reacciones adversas

Este producto veterinario es muy bien tolerado a la dosis y periodo de tratamiento recomendados.

En los ensayos clínicos, raramente se comunicaron casos de galactorrea durante el tratamiento con **Leisguard**[®]. Este efecto se considera una consecuencia de los picos de prolactina inducidos por la domperidona y desaparece al interrumpir el tratamiento.

Uso durante la gestación, la lactancia

Gestación - Los estudios de reproducción efectuados en animales de experimentación no mostraron indicios de efectos teratogénicos ni tóxicos para el embrión, relacionados con el fármaco. A dosis 20 veces superiores a la dosis recomendada no se observaron signos de toxicidad para la madre en los animales de experimentación. Sin embargo, no existen suficientes estudios bien controlados en perras gestantes por lo que este medicamento únicamente se usará durante la gestación conforme a la valoración beneficio/riesgo del veterinario.

Lactancia - La administración de domperidona a hembras en lactación de diversas especies ha demostrado inducir un aumento de la producción de leche. Es probable que la administración de **Leisguard**[®] a perras en lactación produzca el mismo efecto.

Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

La cabergolina es un agonista de la dopamina que inhibe la liberación de prolactina en la hipófisis. Por lo tanto, sus efectos son antagonistas a los de la domperidona.

No administrar con protectores gástricos como el omeprazol o la cimetidina ni con otros antiácidos.

La domperidona no debe usarse con dopaminérgicos como la dopamina o la dobutamina.

Posología y vía de administración

0.5 mg Domperidona/kg/día, equivalentes a 1 ml de **Leisguard**[®]/10 kg de peso corporal, una vez al día, durante 4 semanas consecutivas.

Leisguard[®] puede administrarse directamente en la boca o mezclado con el alimento. Para garantizar la dosificación correcta debe determinarse el peso corporal del animal con la mayor precisión posible.

Agitar bien antes de su uso.

Existen distintos programas de administración:

a) Reducción del riesgo de desarrollar una infección activa de leishmaniosis y la enfermedad clínica después del contacto con *Leishmania infantum*.

En animales seronegativos que nunca hayan presentado signos de infección por *Leishmania spp.* pero que habitan o van a viajar a una zona endémica, se programará el tratamiento con domperidona teniendo en cuenta la prevalencia temporal de los vectores de la leishmaniosis (*Phlebotomus spp.*) en la localización geográfica actual o de destino del paciente.

En las áreas de alta prevalencia o en zonas climáticas con una estación epidemiológica prolongada debe administrarse un tratamiento cada cuatro meses. En el área mediterránea sería aconsejable administrar el tratamiento en junio, octubre y febrero.

En las zonas de baja prevalencia, puede ser suficiente con un periodo de tratamiento al principio de la estación epidemiológica y otro, poco después del final de dicha estación.

En todos los casos, será el veterinario quien decidirá la estrategia de tratamiento en función de la incidencia local de la enfermedad y la presencia eventual de vectores infectantes.

b) Control de la progresión de la leishmaniosis canina en las primeras fases de la enfermedad.

Se iniciará el tratamiento inmediatamente después del diagnóstico para ayudar al animal a autolimitar la enfermedad.

VII. Ficha Técnica

Puede repetirse el tratamiento con **Leisguard**[®] cuantas veces sea necesario de acuerdo con el seguimiento clínico y serológico llevado a cabo por el veterinario.

Sobredosis

En ensayos de tolerancia realizados en perros, este medicamento veterinario se ha administrado a dosis cinco veces superiores a la dosis recomendada durante periodos de hasta un año sin acontecimientos adversos apreciables.

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Grupo farmacoterapéutico: Otros agentes antiprotozoarios

Código ATCvet: P51AX24

Propiedades farmacodinámicas

La domperidona es un antagonista de la dopamina que estimula la liberación de prolactina en la hipófisis. Su administración repetida diariamente da lugar a picos diarios reversibles de la concentración sanguínea de prolactina con efectos estimulantes de la inmunidad celular, lo que conduce a la activación de la capacidad fagocítica de los leucocitos y como consecuencia, a una reducción eficaz del número de microorganismos intracelulares (*Leishmania spp.*) en condiciones “in vitro”. La domperidona también tiene propiedades antieméticas y gastrocinéticas por su antagonismo con los receptores de la dopamina.

Datos farmacocinéticos

Absorción

En perros en ayunas, la domperidona se absorbe rápidamente tras su administración por vía oral, alcanzando una concentración plasmática máxima (C_{max}) de 16.6 mg/ml a las 2 horas. La baja biodisponibilidad absoluta de la domperidona oral (24%) se debe a un importante efecto metabólico de primer paso en la pared intestinal y en el hígado. La biodisponibilidad de la domperidona no se ve afectada cuando se administra con el alimento.

En estudios llevados a cabo en perros con dosis orales entre 2.5 y 40 mg/kg, se observó que la domperidona no se acumula ni induce su propio metabolismo. La fracción de domperidona unida a las proteínas plasmáticas oscila entre el 91% y el 93%.

Distribución

Los estudios de distribución en animales con el fármaco marcado radioactivamente indican que se distribuye ampliamente por los tejidos, aunque no atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica. En ratas, atraviesa la placenta en pequeñas cantidades.

Metabolismo

La domperidona experimenta un rápido y amplio metabolismo hepático por hidroxilación y N-desalquilación. La hidroxilación aromática de la domperidona produce la hidroxidomperidona que es el principal metabolito que se encuentra en las heces. Los metabolitos resultantes de la N-desalquilación y sus conjugados pueden detectarse en la orina. Ninguno de los metabolitos identificados es farmacológicamente activo.

Eliminación

La semivida de eliminación ($T_{1/2}$) es de 3.2 horas, el volumen de distribución (V_d) de 3.3 l/kg y el aclaramiento plasmático (Cl) de 0.73 l/h/kg. La proporción de fármaco que se elimina inalterado es pequeña (15% de la excreción fecal y aproximadamente, el 2% de la excreción urinaria). La cantidad de domperidona eliminada en heces y orina corresponde, respectivamente, al 60% y al 28% de la dosis oral. En la leche puede hallarse en cantidades muy pequeñas.

VII. Ficha Técnica

DATOS FARMACÉUTICOS

Lista de excipientes

Sorbitol líquido (no cristizable)
Celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio
Para-Hidroxibenzoato de metilo
Para-Hidroxibenzoato de propilo
Sacarina sódica
Polisorbato 20
Amarillo de quinoleína
Saborizante de frutas variadas
Hidróxido sódico
Agua purificada

Incompatibilidades

En ausencia de estudios de compatibilidad, este medicamento veterinario no debe mezclarse con otros medicamentos.

Periodo de validez

Período de validez del medicamento veterinario acondicionado para su venta: 30 meses. Período de validez después de abierto el envase primario: 8 meses

Precauciones especiales de conservación Conservar en el embalaje original. Proteger de la luz

Precauciones especiales para la eliminación del medicamento veterinario no utilizado o, en su caso, los residuos derivados de su uso.

Todo medicamento veterinario no utilizado o los residuos derivados del mismo deberán eliminarse de conformidad con las normativas locales.

Nº Registro: 2383 ESP.

Condiciones de dispensación: Uso veterinario. Prescripción veterinaria.

VIII. Tabla de prevalencia de Leshmaniosis canina



País	Región	Provincia	Comarca/área	Prevalencia (%)	Referencia
España	Andalucía	Almería		9	Sanchis Marin et al.,1989
España	Andalucía	Almería	Campo de Níjar	9	Sanchis Marin et al.,1997
España	Andalucía	Almería		31.91	Campos Maldonado et al., 1992
España	Andalucía	Córdoba		23.7	Martinez - Cruz et al., 1990
España	Andalucía	Granada		8.8	Reyes-Magaña et al., 1988
España	Andalucía	Granada	Alpujarras	5.3	Achedo-Sánchez et al., 1996
España	Andalucía	Granada		8.8	Sánchez et al., 1996
España	Andalucía	Granada		5.3	Acedo-Sánchez et al., 1996
España	Andalucía	Granada	Alpujarras	13	Martín-Sánchez et al., 2009
España	Andalucía	Granada y Jaén		12.1	Achedo-Sánchez et al., 1998
España	Andalucía	Jaén-Granada		5	Morillas-Márquez, 1989
España	Andalucía	Málaga		34.6	Morillas et al.,, 1996
España	Aragón	Huesca	Hoya de Huesca	15.7	Peris A. 2011
España	Aragón	Teruel	Bajo Aragón	2.8	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Campo de Borja	2.6	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Cinco Villas	8.5	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Calatayud	5.8	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Valdejalón	20.0	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Zaragoza	11.9	Peris A. 2011
España	Aragón	Zaragoza	Calatayud	13.0	PCPL, 1991
España	Aragón	Zaragoza	Zaragoza	7.1	Castillo et al., 1984
España	Aragón	Zaragoza		8.5	Castillo et al., 1985
España	Baleares	Baleares		6.0	PCPL, 1991
España	Baleares	Ibiza		9.8 - 21.2	Nieto et al., 2004
España	Baleares	Mallorca		14.0	Matas y Rovira, 1989
España	Baleares	Mallorca		67	Solano-Gallego et al., 2001
España	Baleares	Mallorca		45,3	Pujol et al., 2005
España	Baleares	Mallorca	Manacor	29.3	Solano-Gallego et al., 2006
España	Baleares	Mallorca e Ibiza		6.4	Abellán García, 1997
España	Castilla-La Mancha			16.8	Benito y Alvar, 1989
España	Castilla-La Mancha			7.0	PCPL, 1991
España	Castilla-La Mancha	Albacete		8.3	Benito y Alvar, 1989
España	Castilla-La Mancha	Ciudad Real		6.74	Benito y Alvar, 1989
España	Castilla-La Mancha	Guadalajara		5.8	Benito y Alvar, 1989
España	Castilla-La Mancha	Toledo		11.42	Benito y Alvar, 1989
España	Castilla-León	Salamanca		10-15	Encinas et al., 1988
España	Castilla-León	Valladolid		5.3	Couto et al., 2010
España	Cataluña			31	Portús et al., 1987
España	Cataluña			10.2	Portús et al., 1998
España	Cataluña	Barcelona	Cerdanyola del Vallés	28.9	Botet et al., 1987
España	Cataluña	Barcelona	Reus	65	Solano-Gallego et al., 2006

País	Región	Provincia	Comarca/área	Prevalencia (%)	Referencia
España	Cataluña	Tarragona	Priorat	51.7	Solano-Gallego et al., 2006
España	Cataluña	Tarragona	Priorat	7.9	Aisa et al., 1998
España	Cataluña	Tarragona	Priorat	10.2	Fisa et al., 1999
España	Cataluña	Tarragona		18.0	Portús et al., 1987
España	Cataluña	Tarragona		9.3	Portús et al., 1987
España	Extremadura	Cáceres		14	Nieto et al., 1992
España	Extremadura	Cáceres		12.64	Nieto et al., 1989
España	Galicia	A Coruña	Santiago de Compostela	1.6	PCPL, 1991
España	Galicia			3.7	Amusategui et al., 2004
España	Galicia	Ourense	Valdeorras	29.2	Amusategui et al., 2004
España	Galicia	Ourense	Ourense	7.5	Amusategui et al., 2004
España	Madrid	Madrid		3.9	Ayto. Madrid, 1999
España	Madrid	Madrid		8.1	Gálvez, 2010
España	Madrid	Madrid		7.8	Miró et al., 2007a
España	Murcia			9.1	PCPL, 1991
España	Navarra			4.4	PCPL, 1991
España	Valencia			19.8	Abellán García, 1997
España	Valencia			5.0	PCPL, 1991
España	Valencia	Alicante		23	Brazal-García et al., 1990
España	Valencia	Alicante	Crevillente	22	Alonso et al., 2010
España	Valencia	Castellón		16	Arnedo et al., 1994
España	Valencia	tres áreas		10.0	PCPL, 1991
Portugal				23	Abranches et al., 1984
Portugal			Lisboa	19.2	Cortés et al., 2007
Portugal	Alto Douro	Alijó		32-49	Cabral et al., 1998
Portugal		Ribatejo	Vilafranca de Xira	50	Faria et al., 2008
Portugal	Alentejo		Évora	9.4	Semiao-Santos et al., 1999
Portugal	Algarve		Loulé	7	www.onleish.org
Portugal	Algarve	Faro		7	www.onleish.org
Portugal	Alto Douro	Alijó		18.7	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Pegarinhos	17.2	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Favaios	54.8	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Sao Mamede de Ribatua	22.4	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Vale de Mendiz	52.7	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Castedo	81.1	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Cotas	45.7	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Vilarinho de Cotas	80	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Casal de Loivos	48.1	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Pinhao	27.3	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Santa Eugénia	12.5	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Vila Chã	17.6	Cardoso et al., 2004a

País	Región	Provincia	Comarca/área	Prevalencia (%)	Referencia
Portugal	Alto Douro	Alijó	Vilar de Maçada	14.4	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Carlao	4.9	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	SanÀns do Douro	7.2	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Amieiro	10.0	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Vila Verde	2.7	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Pópulo	3.4	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Ribalonga	0	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Alijó	Alijó	14.4	Cardoso et al., 2004a
Portugal	Alto Douro	Peso da Régua		20.4	Cardoso et al., 2004b
Portugal	Centro		Lousã	6.2	www.onleish.org
Portugal	Centro	Coimbra	Coimbra	10.1	Sousa et al., 2007
Portugal	Centro	Coimbra	Arganil	4.3	Sousa et al., 2008
Portugal	Centro	Cova da Beira		14.04	Branca et al., 2009
Portugal	Centro	Pinhal Interior Sul	Mação	18.9	Branca et al., 2008
Portugal	Centro	Ribatejo	Santarém y Alcanena	10.3	Rosa et al., 2006 y 2007
Portugal	Lisboa	Lisboa		18,4	Cortes et al., 2007
Portugal	Lisboa	Mafra		8.7	Armés 2010 Tesis doctoral
Portugal	Lisboa	Setúbal		21.3	www.onleish.org
Portugal	Noreste			21.3	Sousa et al., 2011
Portugal	Noreste			21.3	Semaio-Santos et al., 1996
Portugal	Norte		Mesão frito	15	www.onleish.org
Portugal	Norte		Santa Marta de Penaguião	9.4	www.onleish.org
Portugal	Norte		Tabuaço	6.5	www.onleish.org

IX. Referencias Bibliográficas

- ABELLAN C. Epidemiología de la leishmaniasis en España. Programas y medida de control. IZSS/MZCC/WHO Workshop on New Trends in Leishmaniasis Epidemiology and Control in the Mediterranean area, 1997. Palermo (Italy), 11-13 September.
- ABRANCHES P, CONCEIÇÃO-SILVA FM, SILVA-PEREIRA MCD. Kala-azar in Portugal. The sylvatic cycle in the enzootic endemic focus of Arrábida. *J Trop Med Hyg*, 1984; 87: 197-200.
- ACEDO-SÁNCHEZ C, MARTÍN-SÁNCHEZ J, VÉLEZ ID, SANCHÍS MC, LOUASSINIA M, MALDONADO JA, MORILLAS F. Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada province, southern Spain), *International Journal for Parasitology*, 1996, Volume 26, Issue 3, Pages 303–310.
- ACEDO-SANCHEZ C, MORILLAS-MARQUEZ F, SANCHIZ-MARIN MC, MARTIN-SANCHEZ J. Changes in antibody titres against leishmania infantum in naturally infected dogs in Southern Spain. *Veterinary Parasitology*, 1998, vol. 75, nº1, pp. 1-8.
- AISA MJ, CASTILLEJO S, GALLEGO M, FISA R, RIERA MC, DE COLMENARES M, TORRAS S, ROURA X, SENTIS J, PORTUS M. Diagnostic potential of Western blot analysis of sera from dogs with leishmaniasis in endemic areas and significance of the pattern. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1998; 58: 154-159.
- ALONSO F, GIMENEZ FONT P, MANCHON M, RUIZ DE YBANEZ R, SEGOVIA M, BERRIATUA E: Geographical variation and factors associated to seroprevalence of canine leishmaniosis in an endemic Mediterranean area. *Zoonoses and Public Health*, 2010; 57:318-328.
- ARNEDO PENA A, BELLIDO BLASCO JB, GONZÁLEZ MORÁN F, ARIAS SÁNCHEZ A, CALVO MAS C, SAFONT ADSUARA L, FABRA PEIRAT E, CRIADO JUÁREZ J Y PONS ROIG P. Leishmaniasis en Castellón: estudio epidemiológico de los casos humanos, vector y reservorio canino. *Rev Sanid Hig Publica (Madrid)*, 1994; 68, 481-491.
- AMUSÁTEGUI I, SAINZ A, AGUIRRE E Y TESOURO MA, Seroprevalence of Leishmania infantum in northwestern Spain, an area traditionally considered free of leishmaniasis. *Ann N Y Acad Sci*, 2004; 1026, 154-157.
- BANETH G. KOUTINAS A, SOLANO-GALLEGO L, BOURDEAU P. FERRER L. Canine Leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in parasitology*, 2008; Vol. 24 No.7:324-330.
- BARONE JA. Domperidone: a peripherally acting dopamine2-receptor antagonist. *The Annals of pharmacotherapy*, 1999; Vol. 33, pp 429-440.
- BONILLA-ESCOBAR DL. Respuesta inmune a la leishmaniasis: algo más que linfocitos T. *Piel*, 2005; 20(8):383-95.
- BOURDEAU P. DOVAL A. ROUSSEL A. Canine Leishmaniosis in France. Results of a National Survey with 1345 Clinics. *European Veterinary Parasitology College (EVPC) Annual Conference 2011; Zagreb/Croatia, June 16 th. - 17 th.*
- BRANCAL H, MATOS AC, MONTEIRO F, MARTINS M, CARDOSO L. Estudio sero-epidemiológico da leishmaniose canina no concelho de Mação-Resultados preliminares. *Leishmania na sub-região da cova da beira (região centro, Portugal)*, 2008.
- BRANCAL H, MATOS AC, MARTINS M, VENÂNCIO R, CASTELO BRANCO M, CARDOSO L. Estudio da infeçao canina por Leishmania na sub-região da cova da beira (região centro, Portugal), 2009.
- BROGDEN RN, CARMINE AA, HEEL RC, SPEIGHT TM, AVERY GS. Domperidone. A review of its pharmaco-

gical activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy in the symptomatic treatment of chronic dyspepsia and as an antiemetic. *Drugs*, 1982; 24:360-400.

CABRAL M, O'GRADY JE, GOMES S, SOUSA JC, THOMPSON H, ALEXANDER J. The immunology of canine leishmaniosis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. *Veterinary Parasitology*, 1998; 76: 173-180.

CAMPOS M, LOZANO JM, MAÑAS I, JIMÉNEZ F, GONZÁLEZ J. Seroepidemiología de la toxoplasmosis y leishmaniosis canina en la provincia de Almería. In memoriam al profesor doctor D. Francisco de Paula Martínez Gómez / Santiago Hernández Rodríguez (ed. lit.), 1992; ISBN 84-7801-153-6, págs. 107-118.

CARDOSO L, RODRIGUES M, SANTOS H, SCHOONE GJ, CARRETA P, VAREJÃO E, VAN BENTHEM B, AFONSO MO, ALVES-PIRES C, SEMIÃO-SANTOS SJ, RODRIGUES J, SCHALLIG HD. Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Vet Parasitol.*, 2004a; May 7;121(1-2):21-32.

CARDOSO L, SCHALLIG HD, NETO F, KROON N, RODRIGUES M. Serological survey of *Leishmania* infection in dogs from the municipality of Peso da Régua (Alto Douro, Portugal) using the direct agglutination test (DAT) and fast agglutination screening test (FAST). *Acta Trop.*, Jul 2004b; 91(2):95-100.

CASTILLO HERNÁNDEZ JA, SÁNCHEZ ACEDO C, GUTIÉRREZ GALINDO J, LUCIENTES CURDI J, ESTRADA PEÑA A Y GALMES FEMENINAS M, 1985. Evaluación de diversas pruebas en el diagnóstico de la leishmaniasis canina. En: IV Congreso Nacional de Parasitología, Tenerife, p. 31.

CORTES S, AFONSO MO, ALVES-PIRES C, CAMPINO L. Stray dogs and leishmaniasis in urban areas, Portugal. *Emerg Infect Dis.*, 2007; Sep;13(9):1431-2.

COUTO CG, LORENTZEN L, BEALL MJ, SHIELDS J, BERTOLONE N, COUTO JI, COUTO KM, NASH S, SLACK J, KVITKO H, Serological study of selected vector-borne diseases in shelter dogs in central Spain using point-of-care assays. *Vector borne and zoonotic diseases* NY, 2010; 10:885-888.

CHAVEZ-RUEDA K, HERNANDEZ J, ZENTENO E, LEANOS-MIRANDA A, LEGORRETA-HAQUET MV, BLANCO-FAVELA F. Identification of prolactin as a novel immunomodulator on the expression of co-stimulatory molecules and cytokine secretions on T and B human lymphocytes. *Clinical Immunology.*, 2005; 116: 182-191.

EMA European Medicines Agency CaniLeish: EMA/V/C/002232 European Public Assessment Reports (EPAR) - Summary for the public. 2011.

ENCINAS GRANDES A, GÓMEZ-BAUTISTA M, MARTÍN NOVO M Y SIMÓN MARTÍN F. Leishmaniasis in the province of Salamanca, Spain. Prevalence in dogs and seasonal dynamics of vectors. *Ann Parasitol Hum Comp*, 1998; 63, 387-397.

FARIA TCP, FONSECA IMSP, ALFONSO FRA. Estudio sero epidemiológico da infecção por leishmaniasis em cães e gatos do município de Vila Franca de Xira (Ribatejo, Portugal) utilizando o teste de imunofluorescência indirecta. Congreso Estoril, 2008.

FERRER L, ROURA X. La serología y la leishmaniosis canina. PV ARGOS 04/2012.

FERROGLIO E, POGGI M, TRISCIUOGLIO A. Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. *Zoonoses Public Health.*, 2008; Apr;55(3):145-8.

FISA R, GÁLLEGO M, CASTILLEJO S, AISA MJ, SERRA T, RIERA C, CARRIÓ J, GÁLLEGO J Y PORTÚS M, 1999, Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol*, 83, 87-97.

IX. Referencias Bibliográficas

FOGLIA MANZILLO V, OLIVA G, PAGANO A, MANNA L, MAROLI M, GRADONI L. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of Leishmania infection in kennelled stray dogs. *Vet Parasitol.*, 2006; Nov 30;142(1-2):142-5.

CORTES S, AFONSO MO, ALVES-PIRES C, CAMPINO L. Stray dogs and leishmaniasis in urban areas, Portugal. *Emerg Infect Dis.*, 2007; Sep;13(9):1431-2.

COUTO CG, LORENTZEN L, BEALL MJ, SHIELDS J, BERTOLONE N, COUTO JI, COUTO KM, NASH S, SLACK J, KVITKO H. Serological study of selected vector-borne diseases in shelter dogs in central Spain using point-of-care assays. *Vector borne and zoonotic diseases* NY, 2010; 10:885-888.

CHAVEZ-RUEDA K, HERNANDEZ J, ZENTENO E, LEANOS-MIRANDA A, LEGORRETA-HAQUET MV, BLANCO-FAVELA F. Identification of prolactin as a novel immunomodulator on the expression of co-stimulatory molecules and cytokine secretions on T and B human lymphocytes. *Clinical Immunology.*, 2005; 116: 182-191.

EMA European Medicines Agency CaniLeish: EMA/V/C/002232 European Public Assessment Reports (EPAR) - Summary for the public. 2011.

ENCINAS GRANDES A, GÓMEZ-BAUTISTA M, MARTÍN NOVO M Y SIMÓN MARTÍN F. Leishmaniasis in the province of Salamanca, Spain. Prevalence in dogs and seasonal dynamics of vectors. *Ann Parasitol Hum Comp*, 1998; 63, 387-397.

FARIA TCP, FONSECA IMSP, ALFONSO FRA. Estudio sero epidemiológico da infecção por leishmnia infantum em cães e gatos do município de Vila Franca de Xira (Ribatejo, Portugal) utilizando o teste de imunofluorescência indirecta. Congreso Estoril, 2008.

FERRER L, ROURA X. La serología y la leishmaniosis canina. *PV ARGOS* 04/2012.

FERROGLIO E, POGGI M, TRISCIUOGLIO A. Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine Leishmania infantum infection prevention. *Zoonoses Public Health.*, 2008; Apr;55(3):145-8.

FISA R, GÁLLEGO M, CASTILLEJO S, AISA MJ, SERRA T, RIERA C, CARRIÓ J, GÁLLEGO J Y PORTÚS M, 1999, Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol*, 83, 87-97.

FOGLIA MANZILLO V, OLIVA G, PAGANO A, MANNA L, MAROLI M, GRADONI L. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of Leishmania infection in kennelled stray dogs. *Vet Parasitol.*, 2006; Nov 30;142(1-2):142-5.

FRANCO AO, DAVIES CR, MYLNE A, DEDET JP, GÁLLEGO M, BALLART C, GRAMICCIA M, GRADONI L, MOLINA R, GÁLVEZ R, MORILLAS-MÁRQUEZ F, BARÓN-LÓPEZ S, PIRES CA, AFONSO MO, READY PD, COX J. Predicting the distribution of canine leishmaniasis in western Europe based on environmental variables. *Parasitology.*, 2011; Sep 14:1-14.

FUJINO T, KATO H, YAMASHITA S, ARAMAKI S, MORIOKA H, KORESAWA M, MIYAUCHI F, TOYOSHIMA H, TORIGOE T. Effects of Domperidone on serum prolactin levels in human beings. *Endocrinology. Japon.*, 1980; 27 (4): 521-525.

GÁLVEZ R, MIRÓ G, DESCALZO MA, NIETO J, DADO D, MARTÍN O, CUBERO E, MOLINA R. Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniasis in the Madrid region (central Spain). *Vet Parasitol.*, 2010; May 11;169(3-4):327-34.

GÁLVEZ R, DESCALZO MA, GUERRERO I, MIRÓ G, MOLINA R. Mapping the current distribution and pre-

dicted spread of the leishmaniosis sand fly vector in the Madrid region (Spain) based on environmental variables and expected climate change. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2011; Jul;11(7):799-806.

GÓMEZ-OCHOA P, GASCÓN M, CASTILLO JA. Estudio de un nuevo tratamiento de la leishmaniosis canina. Valoración del efecto inmunomodulador de la domperidona. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, 2004.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE D. Study of the effect of the administration of EV-4820 on the cell-mediated immune response in healthy dogs. *ESTEVE veterinaria*. Internal Report nr: EV-07/07-SN, 2008.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE D. Efficacy study of an oral treatment with Domperidone at 0.5mg/kg/day during 30 consecutive days in dogs with mild clinical Leishmaniosis. *ESTEVE veterinaria* Internal Report nr: EV-07/08-SN, 2009a.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE D. A study of the response of macrophage derived from circulating monocytes of healthy dogs treated with EV-4820, to the in vitro infection with *Leishmania infantum*. *ESTEVE veterinaria* Internal Report: EV-07/09-SN, 2009b.

GÓMEZ-OCHOA P, CASTILLO J.A., GASCÓN M, ZARATE JJ., ALVAREZ F, COUTO G. Use of Domperidone in the treatment of canine visceral Leishmaniosis: A clinical trial. *The Veterinary Journal*, 2009c; 179: 259-263.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE, D. Efficacy and safety study of a treatment program with EV 4870 for the control of Canine Leishmaniosis. *ESTEVE veterinaria* Internal Report EV-08/05-SN, 2009d.

GÓMEZ-OCHOA P, LARA A, COUTO G, MARCEN JM, PERIS A, GASCÓN M, CASTILLO JA. The Nitroblue tetrazolium reduction test in canine Leishmaniosis. *Vet Parasitol.*, 2010a; Aug 27;172(1-2):135-8.

GÓMEZ-OCHOA P, LLINÁS J. Clinical Efficacy and Safety of EV-4870 in the treatment of Canine Leishmaniosis in seropositive dogs with mild clinical signs and/or clinicopathological disturbances. *ESTEVE veterinaria* Internal Report nr: EV-08/19-SN, 2010b.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE D, HOMEDES H, FERRER L. Efficacy of domperidone for the treatment of mild and moderate cases of canine leishmaniosis: clinical and immunological short-term follow-up. *Proceedings of the 21st ECVIM Congress*, 2011; abstract no. Im-0-10.

GÓMEZ-OCHOA P, SABATE, D, HOMEDES J, FERRER L. Use of the nitroblue tetrazolium reduction test for the evaluation of Domperidone effects on the neutrophilic function of healthy dogs. In Press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.01.018>.

HALL JA, WASHBAU RJ. Gastric prokinetic agents. In: Bonagura J.: *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII Small Animal Practice*, 2000; pp 614-617.

JOHNSON AG. Domperidone in the treatment of gastroesophageal reflux disease. In: *Advances in drug therapy of gastroesophageal Reflux Disease*. Front Gastrointestinal Res. Basel, Karger, 1992; Vol. 20, pp 45-53.

KATO H, FUJINO T, ARAMAKI S, KORESAWA M, YAMASHITA S, TORIGOE T. The role of Domperidone in the regulation of prolactin release in rats. *Life Sciences.*, 1980; Vol. 26 (16), pp. 1343-1347.

KOHLI JD, GLOCK D, GOLDBERG LI. Selective DA₂ vs DA₁ antagonist activity of Domperidone in the periphery. *European Journal of Pharmacology*, 1983; 89: 137-141.

IX. Referencias Bibliográficas

LARRAGA V, CARRASCO M, RODON J. Study of the effect of Domperidone administered by oral route at two different dosages on the cell-mediated immune response in healthy Beagle dogs. CIB-CSIC Internal Report nr: CIN/EV-05/03-SN, 2007.

LIMA G, VALLOCHI AL, SILVA UR, BEVILACQUA E, KIFFER M, ABRAHAMSOHN IA The role of polymorphonuclear leukocytes in the resistance to cutaneous leishmaniasis. *Immunol Lett.*,1998; 64:145-51.

LLINÁS J, GÓMEZ-OCHOA P, SABATÉ D, HOMEDES J, FERRER L. Clinical efficacy of a domperidone-based treatment program for the prevention of canine leishmaniosis. Proceedings of the 46th AVEPA-SEVC Congress, 2011a.

LLINÁS J., SABATE D, Efficacy and safety study of a treatment program with LEISGUARD for the control of Canine Leishmaniosis in a highly endemic geographical area - Extension. ESTEVE veterinaria Internal Report nr: EV- 10/04-SN, 2011b.

LUCIENTES J. Los Áeotomos. Vectores de la Leishmaniosis. Actas Congreso Leishmaniosis centenario del Col. legi OÀcial de Veterinaris de Tarragona. 6 Marzo 2004.

MARTÍN-SÁNCHEZ J, MORALES-YUSTE M, ACEDO-SÁNCHEZ C, BARÓN S, DÍAZ V, MORILLAS-MÁRQUEZ F. Canine leishmaniasis in southeastern Spain. *Emerg Infect Dis.*, 2009; May;15(5):795-8.

MARTY P, IZRI A, OZON C, HAAS P, ROSENTHAL E, DEL GIUDICE P, GODENIR J, COULIBALY E, GARITOUSSAINT M, DELAUNAY P, FERRUA B, HAAS H, PRATLONG F, LE FICHOUX Y. A century of leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Ann Trop Med Parasitol*, 2007; Oct;101(7):563-74.

MATERA L. Action of Pituitary and Lymphocyte Prolactin. *Neuroimmunomodulation*, 1997;4:171-180.

MATERA L, MORI M. Cooperation of Pituitary Hormone Prolactin with Interleukin-2 and Interleukin-12 on Production of Interferon- γ by Natural Killer and T Cells. *ANNALS NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES*, 2000; pp 505-513.

MATERA L, MORI M, GELETTO A. Effect of prolactin on the antigen presenting function of monocyte-derived dendritic cells. *Lupus*, 2001; 10, 728-734.

MARTÍN-SÁNCHEZ J, MORALES-YUSTE M, ACEDO-SÁNCHEZ C, BARÓN S, DÍAZ V Y MORILLAS-MÁRQUEZ F. Canine leishmaniasis in southeastern Spain. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15, 795-798.

MARTÍNEZ-CRUZ MS, MARTÍNEZ-MORENO A, MARTÍNEZ-MORENO FJ, MARTÍNEZ-GÓMEZ F Y HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ S, 1990, Epidemiología de la leishmaniosis canina en Córdoba. *Revista Ibérica de Parasitología*, 1990; 50, 1-7.

MIRÓ G, GÁLVEZ R, MATEO M, MONTOYA A, DESCALZO MA, MOLINA R. Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Vet Parasitol.*, 2007a; Feb 28;143(3-4):375-9.

MIRÓ G, MONTOYA A, MATEO M, ALONSO A, GARCÍA S, GARCÍA A, CABALLERO MJ Y MOLINA R. A leishmaniosis surveillance system among stray dogs in the region of Madrid: ten years of serodiagnosis (1996-2006). *Parasitol Res*, 2007;101, 253-257.

MORILLAS F, SÁNCHEZ RABASCO F, OCAÑA J, MARTÍN-SÁNCHEZ J, OCAÑA-WIHELMI J, ACEDO C Y SANCHÍS-MARÍN MC, 1996, Leishmaniosis in the focus of the Axarquía region, Malaga province, southern Spain: a survey of the human, dog, and vector. *Parasitol Res*, 82, 569-570.

NIETO CG, NAVARRETE I, HABELA M Y HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ S, 1992, Seroprevalence of canine leishmaniasis around Cáceres, Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 13, 173-178.

NIETO J. Leishmaniasis canina: Riesgo Epidemiológico. *Actas Congreso Leishmaniosis centenario del Colegio Oficial de Veterinarios de Tarragona*. 6 Marzo 2004.

RODRÍGUEZ - CORTÉS A, OJEDA A, TODOLÍ F, ALBEROLA J., Performance of Commercially Available Diagnostic Tests to Detect *Leishmania infantum* Infection Using a Real Gold Standard. *Veterinary Parasitology* 2011 (in press).

OLIVA G, SCALONE A, FOGLIA MANZILLO V, GRAMICCIA M, PAGANO A, DI MUCCIO T, GRADONI L. Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *J Clin Microbiol.*, 2006; Apr; 44(4):1318-22.

OLIVA G, ROURA X, CROTTI, A, MAROLI, M, CASTAGNARO, M, GRADONI L, LUBAS G, PALTRINIERI, S, ZATELLI A, ZINI, E. Guidelines for treatment of leishmaniasis in dog. *JAVMA*, 2010; Vol 236, No. 11, June 1.

PALTRINIERI S, SOLANO-GALLEGO L, FONDATI A, et al. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.*, 2010; 236:1184-1191.

PENNISI MG, DE MAJO M, MASUCCI M, BRITTI D, VITALE F, DEL MASO R. Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. *The Veterinary Record*, 2005; March 12, 156, 346-349.

PERIS A. Estudio seroepidemiológico de la dinámica de infección de *Leishmania infantum* en poblaciones caninas del valle medio del Ebro. Tesis Doctoral Univ. Zaragoza, 2011.

PODALIRI VULPIANI M, IANNETTI L, PAGANICO D, IANNINO F, FERRI N. Methods of Control of the *Leishmania infantum* Dog Reservoir: State of the Art. *Vet Med Int*. 2011; 215964. Epub 2011 Jul 7.

POLCINSKI P, DZITKO K, DLUGONSKA H. Prolactin as a modulator of antiparasitic immunity. *Wiad Parazytol.*, 2007; 53(4):263-70.

PORTUS M, FISA R, SERRA T, GALLEGO M, MORA R. Estudios seroepidemiológicos sobre la leishmaniosis canina en Cataluña. *Med Vet*, 1987; 4: 569-575.

PUJOL A, CORTÉS E, RANZ A, VELA C, AGUILÓ. C. Y MARTÍ B, 2005. Estudio de seroprevalencia de leishmaniasis (*L. infantum*) y de ehrlichiosis (*E. canis*) en la isla de Mallorca mediante técnicas inmunológicas. En: Congreso de la Asociación de Veterinarios Especialistas en Diagnóstico de Laboratorio (AVEDILA), pp. 9-12.

PRAKASH A, WAGSTAFF AJ. Domperidone, a review of its use in diabetic gastropathy. *Drugs*, 1998; 56 (3); 429-445.

REBER PM. Prolactin and Immunomodulation. *The American Journal of Medicine.*, 1993; Vol 95 pp. 637-644.

REYNTJENS AJ, NIEMEGEREERS CJ, VAN NUETEN JM, LADURON P, HEYKANTS J, SCHELLEKENS KH, MARSBOOM R, JAGENEAU A, BROEKAERT A, JANSSEN PA. Domperidone, a novel and safe gastrokinetic anti-nauseant for the treatment of dyspepsia and vomiting. *Arzneimittelforschung.*, 1978; 28(7):1194-1196.

IX. Referencias Bibliográficas

REYNTJENS A. Domperidone: Upper digestive clinical pharmacology and antiemetic properties. Proceedings of a Satellite Symposium of the First European Symposium on Gastrointestinal Motility. 1982; Bologna, Sept 7-8.

RODRÍGUEZ-CORTÉS A, OJEDA A, FRANCINO O, LÓPEZ-FUERTE L, TIMÓN M, ALBEROLA J. Leishmania infection: laboratory diagnosing in the absence of a “gold standard”. *Am J Trop Med Hyg.*, 2010; Feb;82(2):251-6.

ROOYEN JM, OFFERMEIER J. Peripheral dopaminergic receptors. Physiological and pharmaceutical aspects of the therapeutic importance. *Sa Medical Journal.* 1981;59(10): 329-332.

ROSSEAU D, DEMARTINO S, FERRUA B, MICHIELS JF, ANJUERE F, FRAGAKI K, et al. In vivo involvement of polymorphonuclear neutrophils in *Leishmania infantum* infection. *BMC Microbiology.*, 2001; 1:17-22.

ROVENSKY J, BUC M, LOJDA Z, RUZICKOVA M, BLAZICKOVA S, RAUOVA L, MISTINA T, VIGAS M, LACKOVIC V. Effect of Domperidone-Induced hyperprolactinemia on selected immune parameters in healthy women. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1995; 43: 221-227.

ROVENSKY J, FERENCIK M, VIGAS M. Effect of domperidone-induced hyperprolactinemia on the activity of some lysosomal enzymes in peripheral polymorphonuclear leukocytes of healthy women. *Int.J. Immunotherapy*, 1996; XII (1/2): 25-31.

ROVENSKY J, FERENCIK M, VIGAS M. Effect of domperidone-induced hyperprolactinemia on the activity of some lysosomal enzymes in peripheral polymorphonuclear leukocytes of healthy women. *Int.J. Immunotherapy*, 1996; XII (1/2): 25-31.

ROVENSKY J, LACKOVIC V, VESELKOVA Z, HORVATHOVA M, KOSKA J, BLAZICKOVA S, VIGAS M. Plasma cytokine concentration and the cytokine producing ability of whole blood cell cultures from healthy females with pharmacologically induced hyperprolactinemia. *Int. J. Tissue React.*, 1999; XXI (2): 43-49.

SABATÉ D, HOMEDES J. Study of the kinetic profile of the hormone prolactin after oral administration of Domperidone to male beagle dogs. ESTEVE veterinaria. Internal Report nr: EV-04/05-SN, 2005.

SABATÉ D, HOMEDES J. Study of the kinetic profile of the hormone prolactin after oral administration of Domperidone to female beagle dogs. ESTEVE veterinaria. Internal Report nr: EV-04/10-SN, 2006a.

SABATÉ D, HOMEDES J. Study of the kinetic profile of the hormone prolactin after repeat oral administration of Domperidone to beagle dogs. ESTEVE veterinaria. Internal Report nr: EV-04/14-SN, 2006b.

SALICHS M, SABATÉ D, HOMEDES J. Estudio de eficacia de la domperidona para inducir una estimulación inmunológica tras la vacunación de cachorros de 6 semanas de vida. Internal Report nr: EV-05/14-SN, 2006a.

SALICHS M, SABATÉ D, HOMEDES J. Estudio de eficacia de la domperidona para inducir una estimulación inmunológica tras la vacunación de cachorros de 8 semanas de vida. Internal Report nr: EV-05/15-SN, 2006b.

SANCHÍS MARÍN MC, MARTÍN SÁNCHEZ J, AMATE P, ACEDO SÁNCHEZ C, MIRAS N, MOSTAPHA L Y MORILLAS F. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en la comarca del Campo de Níjar (Almería). *Ars Pharmaceutica*, 1997; 38, 53-61.

SCARPONA S, ROMEI F, DI CICCO E, ROSSI G. The spontaneous and stimulated Nitroblue Tetrazolium (NBT) test in mononuclear cells of dogs with Leishmaniosis: an useful method to assess the cell mediated immuneresponse. Proceedings of the 2nd International Congress on Canine leishmania, 2010; Pisa. p 167.

SEMIÃO-SANTOS SJ, ABRANCHES P, SILVA-PEREIRA MCD, SANTOS-GOMES GM, FERNANDES JP, VETTER JCM. Reliability of serological methods for detection of leishmaniasis in portuguese domestic and wild reservoirs. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1996; vol.91 no.6 Rio de Janeiro Nov./Dec.

SMELT SC, COTTERELL SE, ENGWERDA CR, KAYE PM. B (2000) cell-deÀcient mice are highly resistant to Leishmania donovani infection, but develop neutrophilmediated tissue pathology. J Immunol., 2000; 3681-8.

SOLANO-GALLEGO L, MORELL P, ARBOIX M, ALBEROLA J, FERRER L. Prevalence of Leishmania infantum infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J Clin Microbiol. 2001 Feb;39(2):560-3.

SOLANO-GALLEGO L, LLULL J, OSSO M, HEGARTY B Y BREITSCHWERDT E, 2006, A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from northeastern Spain. Vet Res, 37, 231-244.

SOLANO-GALLEGO L, KOUTINAS A, MIRÓ G, CARDOSO L, PENNISI MG, FERRER L, BOURDEAU P, OLIVA G, BANETH G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet Parasitol., 2009; Oct 28;165(1-2):1-18.

SOLANO-GALLEGO L, MIRÓ G, KOUTINAS A, CARDOSO L, PENNISI MG, FERRER L, BOURDEAU P, OLIVA G, BANETH G, LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. The LeishVet Group. Parasit Vectors., 2011; May 20;4:86.

SOUSA S, BLANCO AS, TEIXEIRA L, MADEIRA DE CARVALHO L. Leishmaniose canina no distrito de Coimbra. Poster 90, 2008.

SOUSA S, LOPES AP, CARDOSO L, SILVESTRE R, SCHALLIG H, REED SG, CORDEIRO DA SILVA A. Seroepidemiological survey of Leishmania infantum infection in dogs from northeastern Portugal. Acta Trop., 2011; Oct-Nov;120 (1-2):82-7.

SWARKO-SONTA K. Prolactin as an immunoregulatory hormone in mammals and birds. Immunology Letters.,1992; 33: 105-122.

TAKAHASHI T, KUROSAWA S, WILEY JW, OWYANG C. Mechanism for the Gastrokinetic Action of Domperidone. Gastroenterology, 1991; 104:703-710.

VERA-LASTRA O, JARA LJ, ESPINOZA LR. Prolactin and autoimmunity. Autoimmun. Rev., 2002; Dec;1(6):360-4.

VICH-GL9: Good Clinical Veterinary Practices. EMEA/CVMP/VICH/595/1998.

WHO TECHNICAL REPORT SERIES ; NO. 94 Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases WHO Library Geneva, 22-26 March 2010.

ZANDBERGEN VG, HERMANN N, LAUFS H, SOLBACH W, LASKAY T. Leishmaniapromastigotes release a granulocyte chemotactic factor and induce interleukin-8 release but inhibit gamma interferon-inducible protein 10 productionby neutrophil granulocytes. Infect Immun., 2002; 70:4177-84.

