



НАУЧЕН ОБЗОР

ЛАЙШМАНИОЗА ПРИ ЖИВОТНИ И ХОРА.

Лайшманиозата е векторно заболяване, което се предава от пясъчни мухи (флеботомуси или още папатаци) и се причинява от облигатни вътреклетъчни протозои от рода *Leishmania*, семейство *Trypanosomatidae*. Причинителят на кожната лайшманиоза е открит през 1897 г. от руския учен П. Ф. Боровски. През 1900 - 1903 г. W. Leishmann и C. Donovan в Индия откриват при болен от кала-азар паразити, морфологично идентични с телцата на Боровски. Трансмисивният път на предаване чрез флеботомуси S. Adler и M. Berg доказват през 1941 г. при кожна лайшманиоза, а през 1942 г. - C. Swaminath и сътрудници при кала-азар.

Различават се три вида лайшманиози:

- **Висцерална лайшманиоза.** Причинява се от *Leishmania donovani*.

В зависимост от ареала на географското им разпространение се различават три клинико-епидемиологични варианта на висцералната лайшманиоза:

- Индийски (кала-азар)
- Средиземноморско-африкански
- Южноамерикански

Висцералната лайшманиоза е разпространена в тропическите и субтропическите райони и частично в умерения пояс на всички континенти с изключение на Австралия. Преносители са различни видове флеботомуси в зависимост от ареала: *Ph. perniciosus*, *Ph. perfilievi*, *Ph. mayor* и други (Средиземноморието, Средна Азия), *Ph. argentipes* (Индия), *Ph. orientalis* (Судан), *Ph. martini* (Кения), *Lutzomya longipalpis* (Южна Америка). Спорадични случаи има описани и в България от проф. Бр. Братанов. Различните клинико-епидемиологични варианти на висцералната лайшманиоза имат някои епидемиологични особености.



Фигура 1. *Phlebotomus* spp.

(<https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/phlebotomine-sand-flies>)

Средиземноморската висцерална лайшманиоза е зооантропоноза. В природните огнища резервоари са лисици, плъхове и чакали. Човекът се заразява при влизане в огнището

(дърводобив, скотовъдство, лов, туризъм и други) чрез ухапвания от заразени женски флеботомни пясъчни мухи (подсемейство *Phlebotominae*). Заразяват се хора от всички възрасти, но по-често деца. В синантропните и полусинантропните огнища (селски и градски тип) основен резервоар на лайшманиоза са кучетата. *L. donovani* поражда не само вътрешните им органи, но и кожата, което ги прави ефективен източник за заразяване на флеботомусите. В тези ендемични огнища боледуват предимно деца до 5 години, заболяванията са спорадични. Човек много рядко може да бъде източник, защото в кръвта на такива болни, дори в температурния период, лайшманиите се намират в много малко количество. Средиземноморската висцерална лайшманиоза е сезонна, проявявайки се през пролетта (м. април) и рядко през месец ноември.

Индийската висцерална лайшманиоза (кала-азар) е антропоноза с чести, епидемични взривове. Флеботомусите се заразяват от болните, у които в температурния период на болестта в периферната кръв има много лайшманиии, а в късния период - и от кожата. Заразени кучета с кала-азар в огнищата не се откриват. Боледуват хора от всички възрасти. Кала-азар може да има и конгенитална форма, както и да се предаде от паразитоносител на здрав при кръвопреливане. В ендемичните райони изследванията показват, че много от местните жители са положителни за това заболяване, без да са боледували от висцерална лайшманиоза.

Източноафриканската висцерална лайшманиоза е разпространена в саванната зона на Судан, Сомалия, Кения, Етиопия и Уганда. В селските райони тя се проявява като зооантропоноза (резервоари са различни видове гризачи) със спорадично разпространение и периодични епидемични взривове, а в гъсто населените градски райони заболяването е антропоноза с епидемично разпространение. Причинителят се открива периодично в кръвта и кожата.

- **Кожна лайшманиоза** (кожна лайшманиоза на новия свят и кожна лайшманиоза на стария свят). Причинява се от *Leishmania tropica*. Нарича се още Пендинска язва, Източна язва, Тропическа язва, Ашхабатска язва, Алепска пъпка, Багдатска пъпка, Делхийска пъпка, Болест на Боровски.

- **Кожно-лигавична лайшманиоза.** Причинява се от *Leishmania mexicana* и *Leishmania brasiliensis*. Нарича се още Американска лайшманиоза и Мукокутанна лайшманиоза.

Въведение.

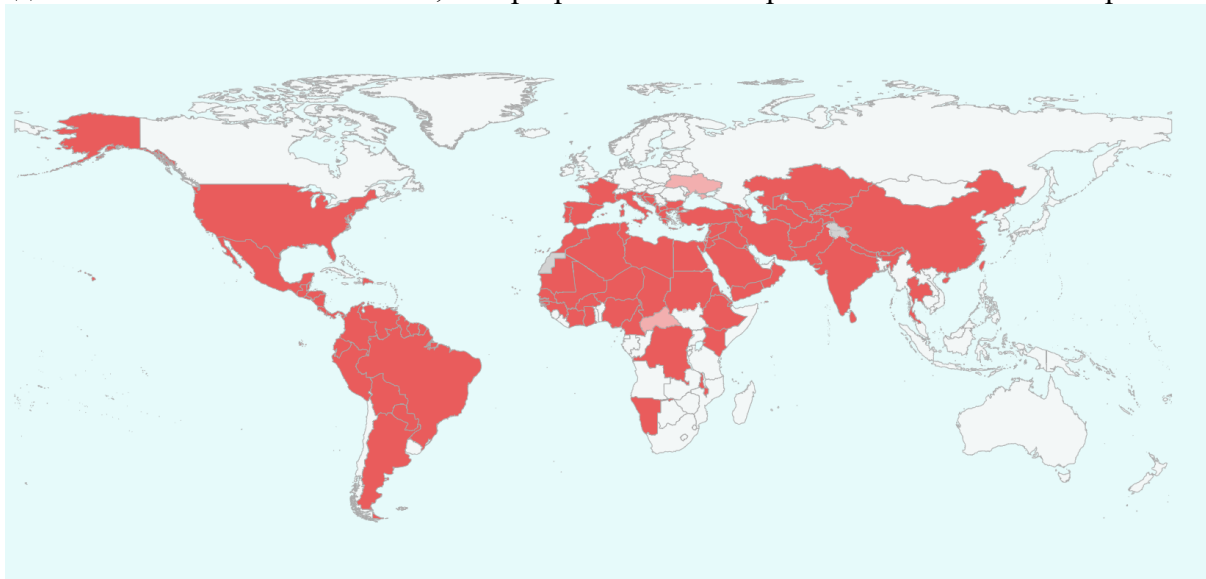
Лайшманиозите са болести, **предавани от вектори**, причинени от облигатни протозойни паразити от рода *Leishmania*. Лайшманиозите са ендемични в големи райони на тропиците, субтропиците и средиземноморския басейн, включително повече от 98 страни, където има общо 350 милиона души в риск и 12 милиона случая на инфекция. Лайшманиозата е пренебрегвана тропическа болест, заразяваща най-бедното население в света в над 90 страни в Азия, Африка, Близкия изток и Централна и Южна Америка.

Настоящите оценки на честотата на кожната лайшманиоза (CL) варират от 700 000 до 1,2 милиона случая на година (CDC¹), като приблизително 95% от случаите се срещат в Северна и Южна Америка, Средиземноморския басейн, Близкия изток и Централна Азия (WHO). Оценките за годишна висцерална лайшманиоза (VL) в момента са по-малко от 100 000, което е значително намаление от предишни оценки от 400 000 (CDC), като повече от 95% от случаите са докладвани от Световната здравна организация (СЗО) от Бразилия, Китай, Етиопия, Индия, Кения, Непал, Сомалия и Судан (WHO). Рисковите фактори за Лайшманиозата включват бедност, миграция на населението, недохранване, лоша хигиена и имунокомпрометирано състояние (WHO). Кучешки лайшманиозата е сериозен проблем и се изчислява, че 2,5 милиона кучета са заразени само в средиземноморски басейн (Akhoundi et al, 2017).

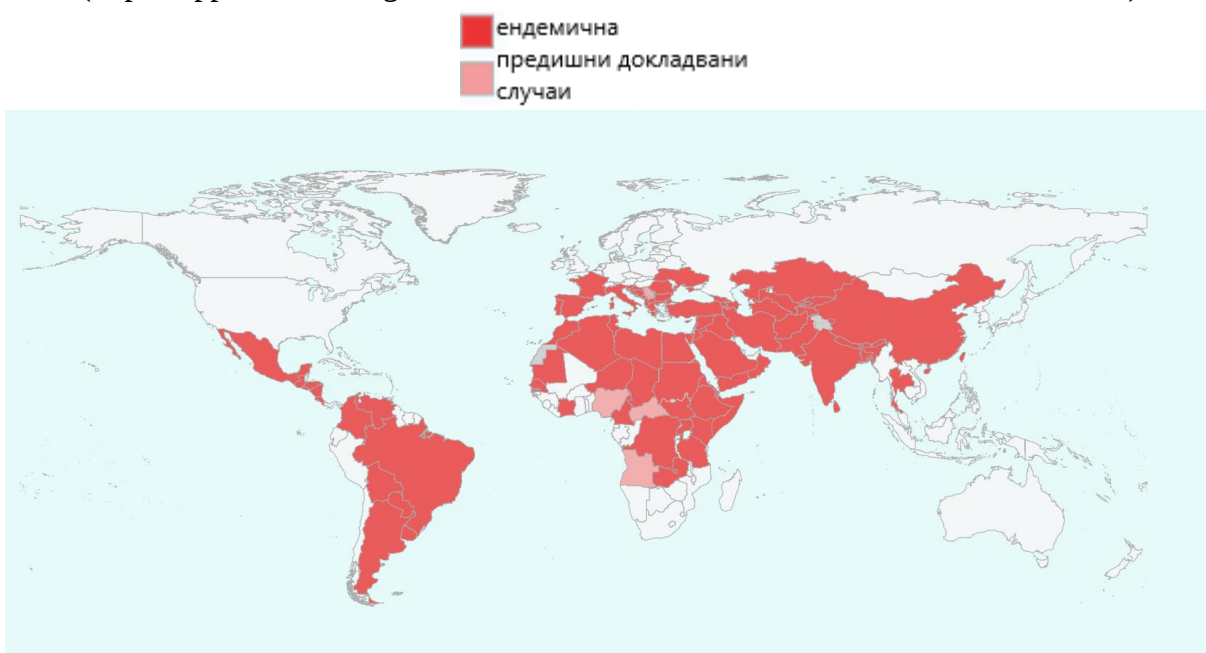
¹ CDC Centers for Disease Control and Prevention – Центровете за контрол и превенция на заболяванията са национален институт за обществено здравеопазване на Съединените щати.

Първите данни за лайшманиозата са от 2500 г. пр.н.е., когато е описана болест със забележими лезии, подобни на съвременните кожни лезии причинени от лайшманиоза. ДНК на *Leishmania* е доказана в мумии и останки от хора, датиращи от 2000 г. пр.н.е.

Разбирането на еволюционните връзки между пясъчните мухи и *Leishmania* е от решаващо значение за бъдещото прогнозиране на моделите на предаване на *Leishmania*, епидемиологията на *Leishmaniasis*, и за разработване на стратегии за намеса и контрол.



Фигура 2. Статус на разпространение на висцерална Лайшмания, данни за 2023 (https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/leishmaniasis/leishmaniasis.html)



Фигура 3. Статус на разпространение на кожната Лайшмания, данни за 2023 (https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/leishmaniasis/leishmaniasis.html)

Над 20 вида от паразита *Leishmania* са характеризирани и се предават от приблизително 70 различни вида флеботомни пясъчни мухи (от родовете *Psychodidae* от семейство *Diptera*, подразделени на *Phlebotomus* в Стария свят и *Lutzomyia* в Новия свят) (Boelaert M, 2014). Като се има предвид голямото разнообразие от видове, лайшманиозата е разделена географски на **Стария свят** и **Новия свят**. Старият свят, отнасящ се до източното полукуълбо, включва Азия, Близкия изток, Африка и Южна Европа. Обратно, **Новият свят** се отнася до Западното полукуълбо, по-специално Мексико, Централна Америка, Южна Америка и САЩ.

Пясъчните мухи се срещат по целия свят и тропическите видове могат да завършат жизнения си цикъл през цялата година (Organization PAHO). В субтропичните райони обаче видовете могат да завършат жизнения си цикъл само през по-топлите месеци. Най-активни през нощта, пясъчните мухи летят безшумно и често не се чуват или виждат от плячката си (Organization PAHO). По-голямата част от CL случаите в САЩ се дължат на пътуване или имиграция (CDC); въпреки това СЗО класифицира САЩ като ендемични за лайшманиоза през 2015 г. (WHO) Освен това, в едно скорошно проучване, от 69 нови случая на лайшманиоза, идентифицирани в Тексас, 41 (59%) са били автохтонни CL без история на пътуване извън САЩ (McIlwee et al., 2018). С изменението на климата се очаква честотата и географското разпространение на лайшманиозата да се увеличат (González et al., 2010). Има 22 вида, принадлежащи към рода *Leishmania*, който е допълнително разделен на подродовите *Leishmania* и *Viannia* въз основа на развитието на организма в храносмилателния тракт на пясъчната муха. Всеки паразитен вид има специфични географски предпочитания, фактори гостоприемници и характеристики на симптомите. Например *L. donovani* се представя като VL в Южна Азия (Бангладеш, Индия, Непал) и Източна Африка (Судан, Сомалия, Етиопия и Кения) и често преобладава сред по-младите индивиди, докато щади по-възрастните поради придобит имунитет (Bern et al., 2006). *L. infantum* (същият вид като *L. chagasi* в Латинска Америка), от друга страна, също може да се представи като VL, но обикновено се среща в Средиземно море, Близкия изток, Пакистан, Иран и Бразилия. В Тексас е установено, че всички ендемични случаи на лайшманиоза са причинени от *L. mexicana* CL (McIlwee et al., 2018).

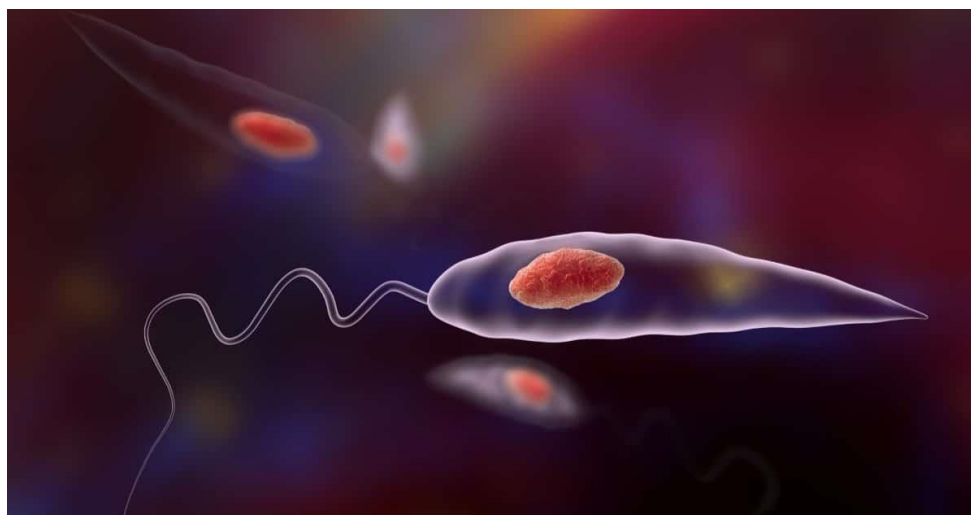
Понастоящем лайшманиозата представлява основен глобален проблем за общественото здраве, показва нарастваща тежест през последното десетилетие (Aoun et al., 2009).

Класификация на Лайшмания: Лайшманиозата се причинява от едноклетъчни паразити от род *Leishmania*, Семейство *Trypanosomatidae*, Разред *Trypanosomatida*.

Род *Leishmania* се дели на *Euleishmania* и *Paraleishmania*.

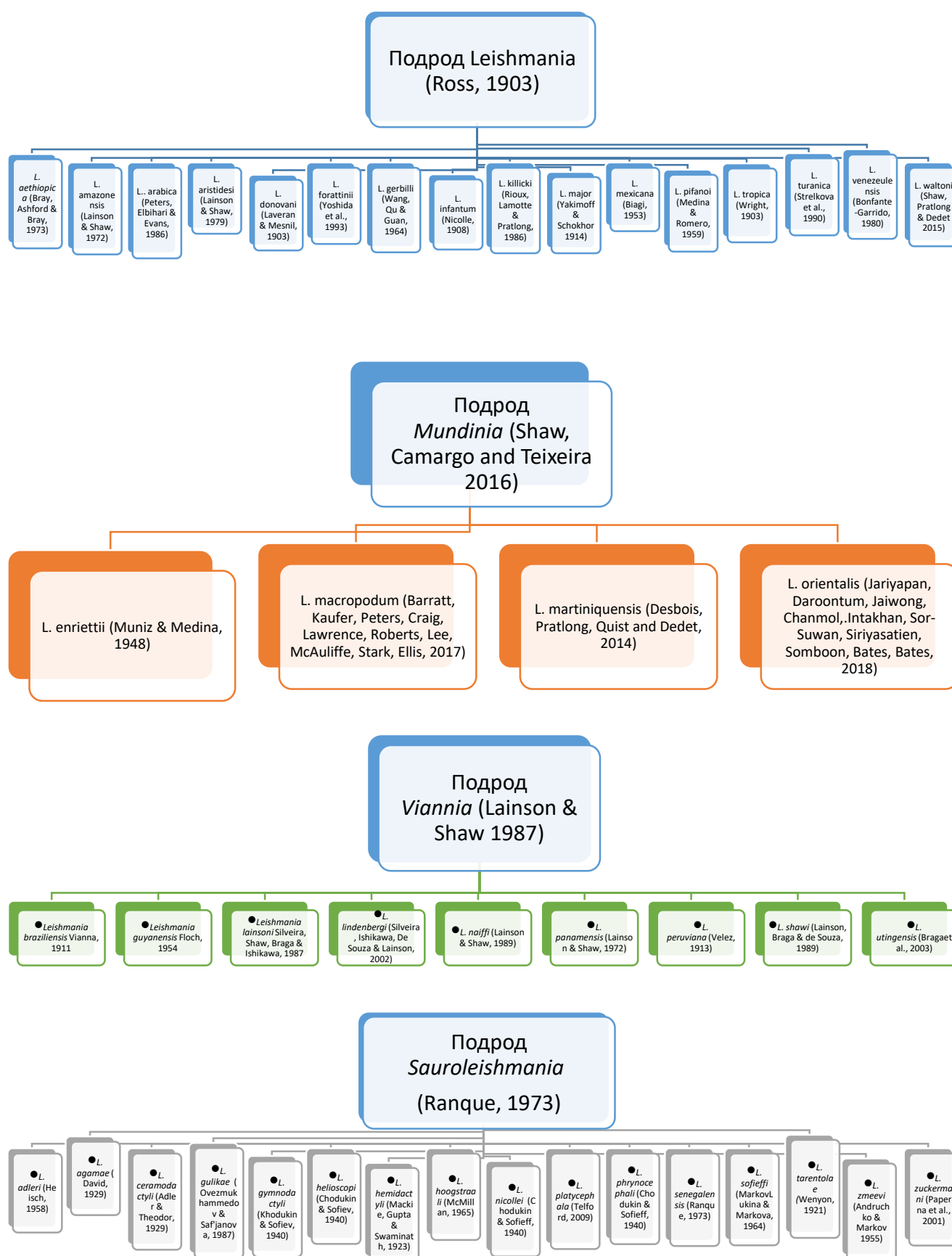
Euleishmania включва видове, които понастоящем са поставени в подродовите *Leishmania*, *Mundinia*, *Viannia* и *Sauroleishmania*.

Paraleishmania включва видове *Leishmamnia* - *L. colomubensis*, *L. herreri*, *L. hertigi* и *L. deanei* и *L. Equatorensis* и *Endotypanum* – *E. schaudinni* и *E. monterogeii*.



Фигура 4. Паразит *Leishmania* (<https://inrs.ca/en/news/hope-for-a-cure-for-visceral-leishmaniasis-an-often-fatal-infectious-disease/>)

Класификация на *Euleishmania*

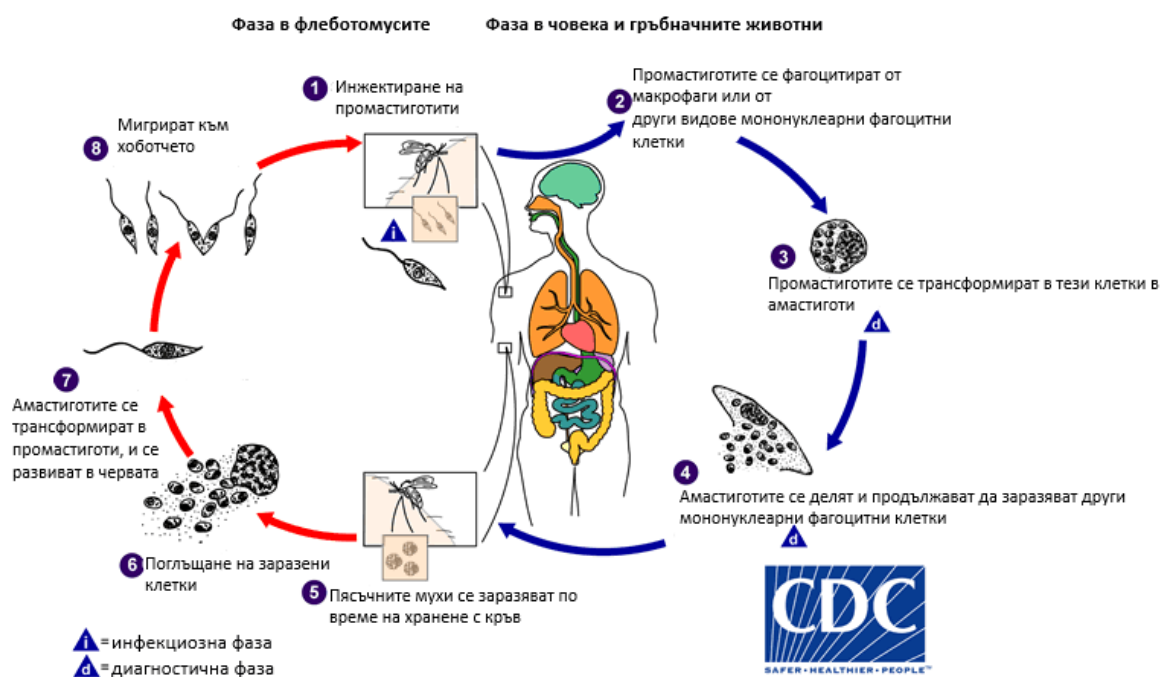


Фигура 5. Класификация на *Euleishmania*

Жизнен цикъл. Женската флеботомна пясъчна муха, е активна най-вече през нощта („от здрач до зори“), предава паразита лайшмания на хора или други животински резервоари. *Leishmania spp.* има две различни фази в своя жизнен цикъл: промастигот и амастигот.

- В организма на човека и гръбначните животни стадият се нарича амастиготен (лайшманиен, вътреклетъчен). Лайшманийната форма има кръгла или овална форма с дължина 2 – 6 μm и ширина 1 – 2,5 μm . В клетката ясно се забелязват ядрото и кинетопластът, които имат точковидна или пръчковидна форма. Някои клетки имат къс флагелум, разположен изцяло интрацелуларно. Тази форма се установява в тъканите на гръбначните животни и човека.

- В организма на флеботомусите стадият се нарича промастиготен (лептомонаден, подвижен). Лептомонадната форма е с удължена вретеновидна форма с дължина от 10 – 20 μm и ширина 5 – 6 μm . Притежават свободен флагелум, който излиза от предния заострен край на клетката. Тази форма на паразита се среща само в насекомите преносители.



Фигура 6. Лайшманиозата се предава чрез ухапване от заразени женски флеботомни пясъчни мухи.

Амастиготите се размножават и развиват в рамките на ретикуло-ендотелната система на гостоприемника, причинявайки асимптоматични или симптоматични форми на заболяването въз основа на основните фактори на гостоприемника и видовете паразити. Амастиготите могат да пътуват по хематогенен и лимфен път, за да причинят мукозно и висцерално заболяване. Мухите се заразяват с *Leishmania spp.* след ухапване на хора със симптоматична инфекция. Смята се, че асимптомните случаи не заразяват пясъчните мухи (Mondal D et al., 2019). В някои региони, хората поддържат жизнения цикъл на лайшмания (антропонозно предаване), което е характерно за *L. tropica* (отговорен за CL в Новия свят) и *L. donovani* (отговорен за VL в Индия) (Davidson et al., 1992).

Животните могат да проявят симптоми, но може и да няма изразена клиника. Кучета, гризачи, маймуните, торбести животни (*Marsupialia*) и непълнозъби (*Edentata*) са сред податливите гостоприемници. По-специално, кучетата са най-важният животински резервоар за *L. infantum* (Faye et al., 2010). Лисиците, чакалите и вълците се смятат за сиватични резервоари. Според проучване на Gradoni et al. (2008) черният плъх (*Ratus rattus*) също е доказан като носител на паразита. Bettini (1986) сочат още червената лисица като възможен резервоар.

Основният механизъм за предаване на Лайшмания е трансмисивният, със задължителното участие на насекоми от род *Phlebotomus* (в Стария Свят) и на род *Lutzomyia* (в Новия Свят) (WHO, 2010). По-рядко паразита може да се предава и чрез трансплантация на органи, кръвопреливане, интравенозна употреба на наркотици или вътреутробно.

Вектори на Лайшманиозата по хората и животните. Паразитите *Leishmania* се предават чрез ухапвания от заразени женски флеботомни пясъчни мухи (подсемейство *Phlebotominae*), които се хранят с кръв, за да произвеждат яйца. Около 70 животински вида, включително хората, могат да бъдат източник на паразити *Leishmania*.

В систематично отношение флеботомите принадлежат към семейство *Psychodidae*, разред *Diptera*, клас *Insecta*, тип *Arthropoda*. Род *Phlebotomus* е представен с над 20 вида – *P. (Larroussius) tobbi* (Adler et al., 1930), *P. (Larroussius) neglectus* (Tonnoir, 1921), *P. (Larroussius) perfiliewi* (Parrot, 1930), *P. (Phlebotomus) papatasi* (Scopoli, 1786), *P. (Larroussius) kandelakii* (Schurenkova, 1929), *P. (Paraphlebotomus) sergenti* (Parrot, 1917), *P. (Paraphlebotomus) alexandri* (Sinton, 1928), *P. (Larroussius) perniciosus* Newsted, 1911, *P. (Adlerius) simici* (Nitzulescu and Nitzulescu, 1931), *P. (Larroussius) mascittii* (Grasi, 1908), *P. (Larroussius) langeroni* (Nitzulescu, 1930), *P. (Larroussius) kandelakii* (Scurenkova, 1929), *P. (Larroussius) longicupsis* (Nitzulescu, 1930), *P. (Phlebotomus) chabaudi* (Groset et al., 1970), *P. (Paraphlebotomus) jacusieli* (Theodor, 1947), *P. (Larroussius) galilaeus* (Theodor, 1958), *P. (Anaphlebotomus) fortunatarum* (Ubeda Ontiveros et al., 1982), *P. (Adlerius) balcanicus* (Theodor, 1958), *P. (Larroussius) ariasi* (Tonnoir, 1921), *P. (Paraphlebotomus) riouxi* (Killick-Kendrick & Leger, 1998), *P. (Transphlebotomus) economidesi* (Leger et al., 2000), *P. (Paraphlebotomus) similis* (Pefiliew, 1963).

Видов състав и разпространение на флеботомите в България

Системни проучвания върху видовия състав на флеботомите в България като биология, разпространение, епидемиологични особености, сезонна динамика може да се каже, че не са провеждани. Най-новите данни за видовия състав на пясъчните мухи са от проучвания извършени между 2014 и 2016 г. по време на проекта VectorNet. Включени са ентомологични колекции на пясъчни мухи в осем страни (България, Босна и Херцеговина, Хърватия, Косово, Черна гора, Северна Македония, Сърбия и Словения). Данните за България са представени в таблица 1 (Dvorak et al., 2020).

Таблица 1. Видове пясъчни мухи в България (Dvorak et al., 2020).

Видове	България
<i>Phlebotomus (Larroussius) tobbi</i>	246
<i>Phlebotomus (Larroussius) neglectus</i>	201 ^a
<i>Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi</i>	132 ^a
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i>	73
<i>Phlebotomus (Larroussius) kandelakii</i>	12
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti</i>	7
<i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta</i>	4
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri</i>	1 ^a
<i>Phlebotomus (Larroussius) perniciosus</i>	0
<i>Phlebotomus (Adlerius) simici</i>	0
<i>Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii</i>	0
<i>Phlebotomus (Adlerius) balcanicus</i>	0
<i>Paraphlebotomus</i> sp.	0

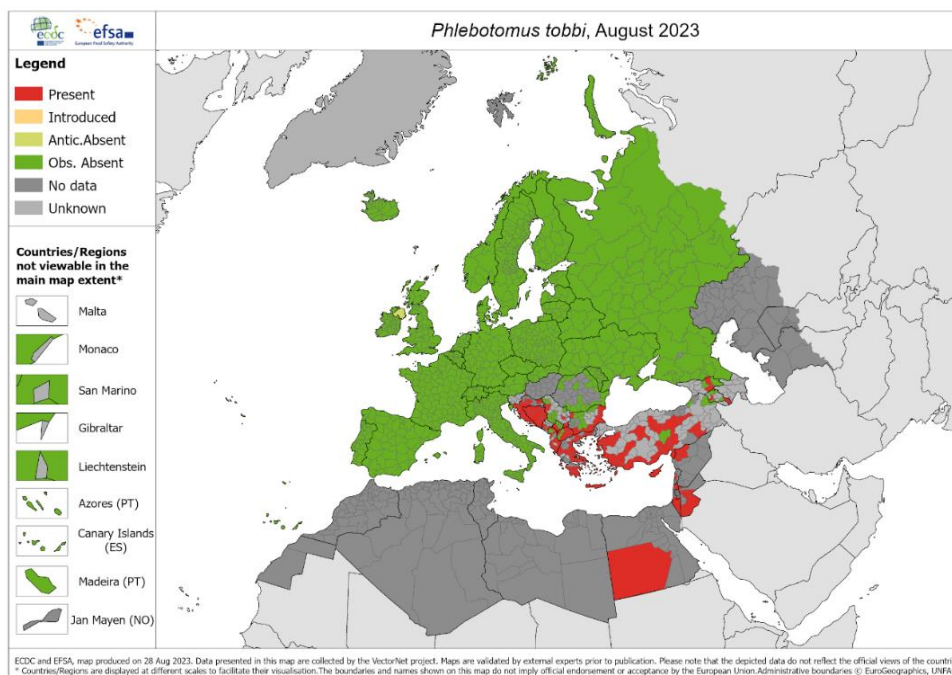
^a За първи път установен в България

Според ентомологичното проучване на Dvorak и сътр. най-разпространеният вид е *P. neglectus*, представляващ 62,03% от всички събрани мухи. *Phlebotomus neglectus* също е регистриран във всички изследвани страни. Вторият най-разпространен вид *P. perfiliewi* (18,66%), е регистриран в България, Северна Македония, Сърбия и Косово, а третият вид *P.*

tobbi (11,59%) във всички страни с изключение на Словения. По-слабо разпространените видове са *P. papatasi*, *P. simici*, *S. minuta* и *P. balcanicus*. *Phlebotomus kandelakii* (s.l.) е регистриран само в България (Dvorak et al., 2020).

Карти на разпространението на флеботомите се публикуват редовно, на страницата на ECDC². Те показват текущото разпространение на видовете *Phlebotomus* в Европа на „регионално“ административно ниво (NUTS3). Базирани са на публикувани исторически данни и потвърдени данни, предоставени от експерти от съответните страни като част от проекта VectorNet (<https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/phlebotomine-maps>).

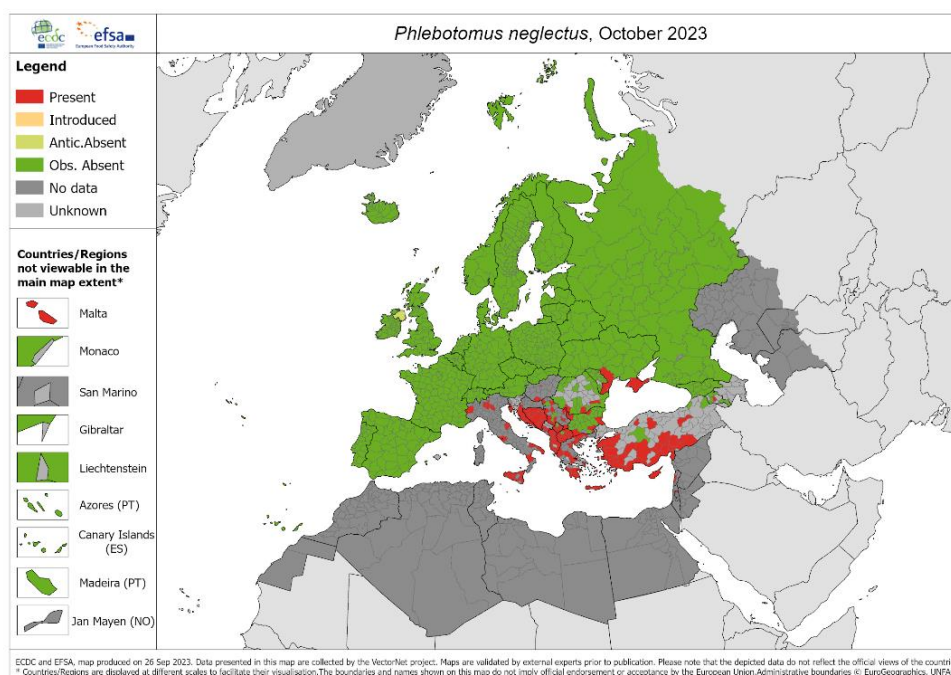
Phlebotomus tobbi е един от най-разпространените видове, широко разпространени в Източното Средиземноморие и Близкия изток, включително Турция (Oguz et al., 2023).



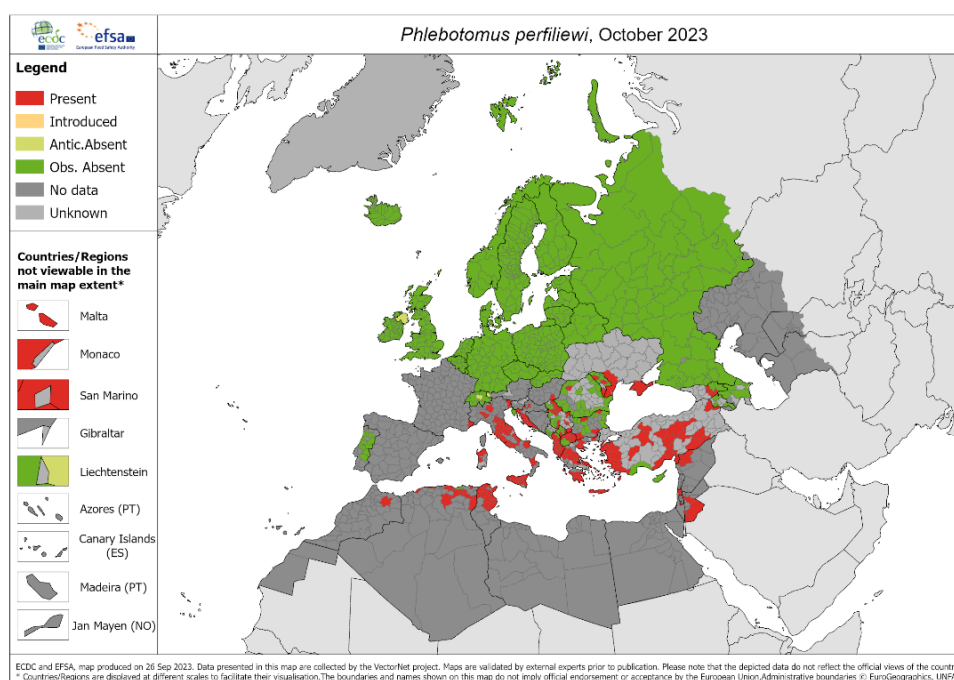
Фигура 7. Разпространение на *Phlebotomus tobbi* към август 2023 г. (ECDC).

Phlebotomus neglectus се среща в Южна Европа и Крим. *Phlebotomus perfiliewi* се среща в Южна Европа и Африка.

² ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control – Европейски център за профилактика и контрол върху заболяванията

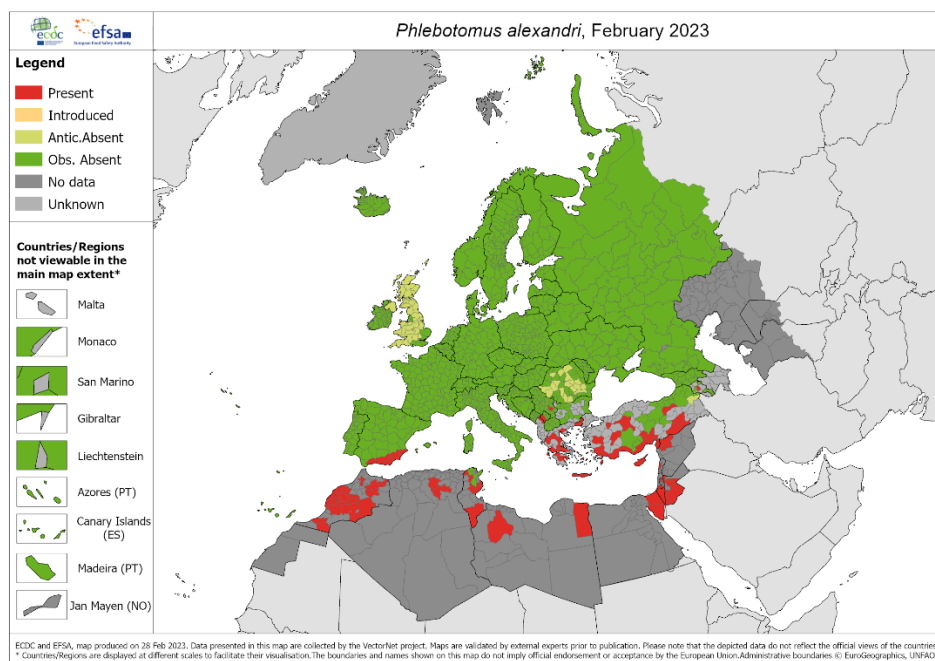


Фигура 8. Разпространение на *Phlebotomus neglectus* към август 2023 г. (ECDC).

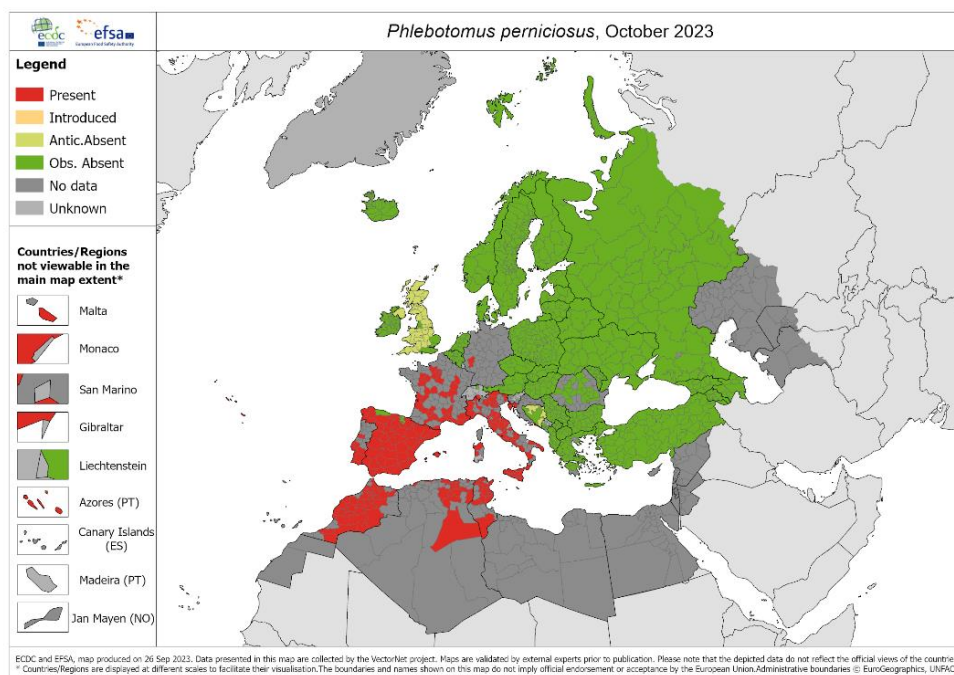


Фигура 9. Разпространение на *Phlebotomus perfiliewi* към август 2023 г. (ECDC).

[*Phlebotomus alexandri*](#) играе роля в предаването на кала-азар в Стария свят (Guan et al., 1986). *Phlebotomus perniciosus* се открива в средиземноморския регион, Близкия изток и Западна Индия и Пакистан (Stanley, 2012).

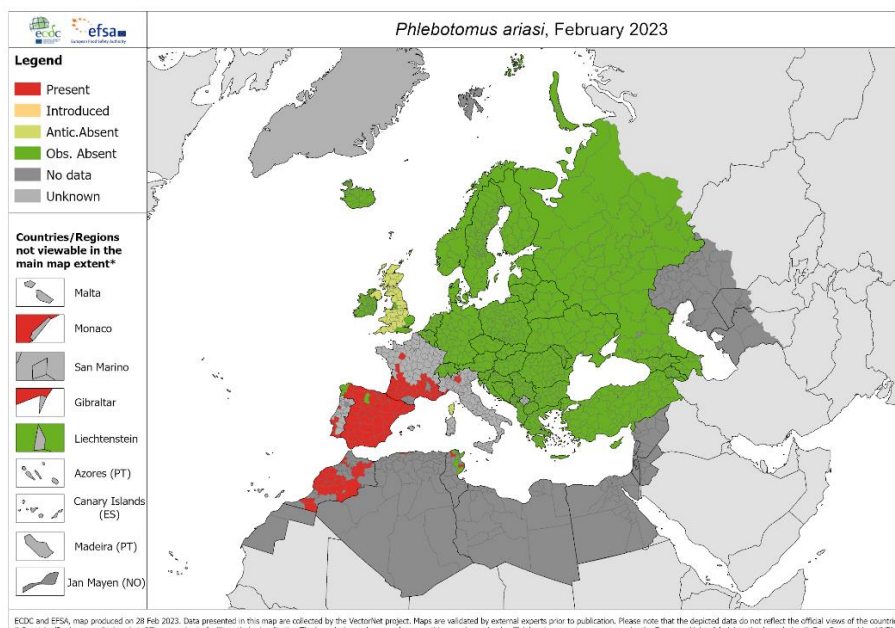


Фигура 10. Разпространение на *Phlebotomus alexandri* към август 2023 г. (ECDC).



Фигура 11. Разпространение на *Phlebotomus perniciosus* към август 2023 г. (ECDC).

Phlebotomus ariasi е разпространен в Алжир, Испания, Франция, Мароко, Португалия и Тунис (Franco et al., 2010)



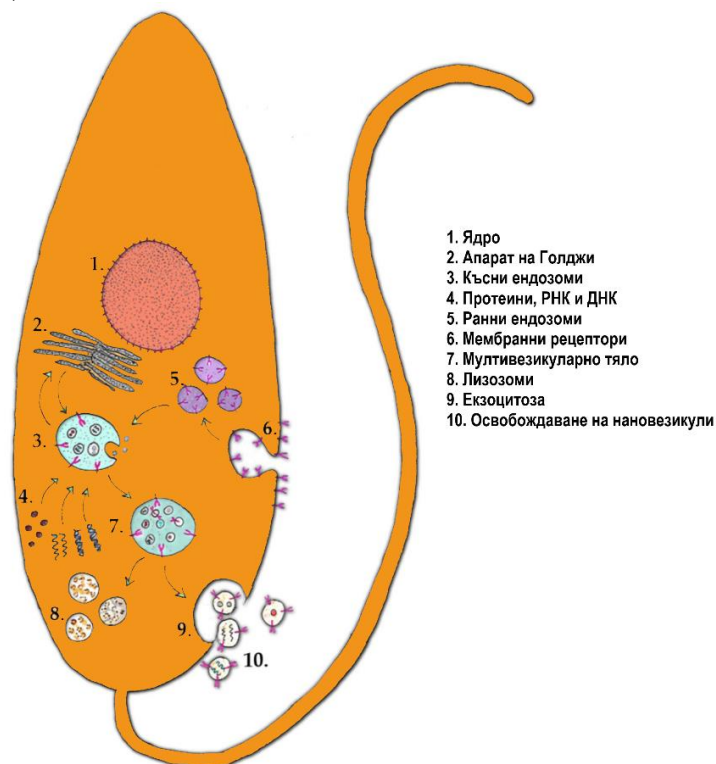
Фигура 12. Разпространение на *Phlebotomus ariasi* към август 2023 г. (ECDC).

Патогенеза. Проявата на Лайшманиоза се смята за дисбаланс между TH1 срещу TH2 CD4+ помощни клетки. TH1 подгрупата от CD4+ Т клетки секретират цитокини, обикновено свързани с възпаление, като IFN- γ и TNF и индуцират клетъчно-медирирани имунни отговори. Когато има първичен TH1 отговор се наблюдава отличен паразитен контрол с ниски нива на паразитемия; въпреки това, се появява кожно-лигавично заболяване в резултат на свръхактивен клетъчен имунитет и клетъчно разрушаване. Подгрупата TH2 произвежда цитокини като IL-4 и IL-5, които помагат на В клетките да пролиферират и се диференцират и се свързва с имунни отговори от хуморален тип. При TH2 имунен отговор има повишен паразитен товар, тъй като неутрализацията на антитялото е неефективна срещу вътреклетъчния паразит. Респондерите на TH2 са по-склонни да развият дисеминирано заболяване, което води до висцерално заболяване и в Новия свят води до дисеминирана кожна лейшманиоза, която се проявява с безброй лезии по цялото тяло (Mann S. et al., 2020).

С течение на времето паразитите *Leishmania* са разработили редица изключително ефективни стратегии за преодоляване на специфични защитни механизми чрез модулиране на физиологичните реакции на различни имунни системи на гостоприемника. Тези паразити имат дигенетичен жизнен цикъл, адаптиран към техните специфични гостоприемници и вектори. Ако секретираният от *Leishmania* везикули участват в патогенезата, може да се очаква, че средата на гостоприемника (бозайника), която е с по-висока температура и по-ниско pH от червата на вектора на пясъчна муха, ще повлияе на освобождаването на везикули, товара на везикулите или и двете. Два независими доклада твърдят, че са наблюдавали зависимо от температурата освобождаване на везикули от *Leishmania* (Silverman et al., 2012; Hassani et al., 2011). Показано е, че освобождаването на везикули от *L. donovani* се е увеличило трикратно, когато промастиготите в стационарна фаза са били изложени на топлинен шок, имитиращ човешка телесна температура - 37° C за 24 часа (Silverman et al., 2012). По-скорошен доклад по подобен начин установи значителна температурно индуцирана секреция на везикули само след 4 часа топлинен шок (Hassani et al., 2011). Освен това, количественият протеомен анализ е установил, че протеиновият товар на екзозомите на *Leishmania* е чувствителен както към температура, така и към pH (Silverman et al., 2012). Във всеки случай, зависимостта от температурата увеличение на освобождаването на везикули, заедно със зависимите от околната среда разлики в протеиновото съдържание, подкрепят заключението, че медираната от *Leishmania* екзозома секреция на протеин е активен процес, подложен на регулиране от околната среда.

Специфичното повишено регулиране на освобождаването на везикули, предизвикано от температури, подобни на инфекция, предполага, че паразитите освобождават везикули в

извънклетъчната среда преди инвазията в клетка гостоприемник (макрофаги, неутрофили или дендритни клетки). Тези везикули могат да бъдат освободени или от наскоро инокулирани промастиготи (и всъщност могат да бъдат част от инокулума, след секреция от метациклични Лайшмания в слюнчената жлеза на пясъчната муха), от свободни амастиготи след разкъсване на клетката или и двете. След освобождаване, тези екзозоми биха били свободни да взаимодействат с наивни гостоприемникови клетки, или чрез повърхностно свързване, сливане с плазмената мембрана, или чрез ендоцитоза. Освен това е доказана секреция на везикуларни структури от *Leishmania* в цитоплазмата на клетките на заразен гостоприемник (Silverman et al., 2012).



Фигура 13. Биогенеза и освобождаване на екзозомите на *Leishmania* и везикулен товар. Диаграма, показваща развитие на нановезикулите, което започва с ендоцитоза, образувайки ранните ендозоми, които се развиват в късни ендозоми чрез пъпкуване навътре и навън мултивезикуларни тела, които могат или да претърпяват разграждане (генериране на лизозоми) или се сливат с клетъчната мембрана и чрез екзоцитоза, освобождават интралуминални ендозомални везикули, които стават екзозоми в извънклетъчната среда (Gabriel et al., 2021).

През последното десетилетие се наблюдава значително разширяване на познанията за секретирания от *Leishmania* протеини. Тези протозойни паразити зависят от секрецията на ефекторни молекули в извън- и вътреклетъчната среда на гостоприемника за инициране и поддържане на успешна инфекция (Besteiro et al., 2006). *Leishmania* секретира микровезикули, които се освобождават в извънклетъчната среда, и доставят ефекторен товар към целевите клетки-гостоприемници. Този товар медира имуносупресията и функционално подготвя клетките гостоприемници за инвазия на паразита.

През последните години изследователските усилия се фокусират все повече върху развитието на експериментални подходи при изследването на паразитните извънклетъчни везикули, в отговор на неотдавнашното разширяване на интереса към ролята на секретирания от *Leishmania* везикули в патогенезата на кожната и висцерална лайшманиоза (Schorey, et al., 2015). Нововъзникващи технологии като протеомни и биоинформационните анализи са адаптирани за изследване на извънклетъчните везикули освободени от паразити *in vitro*. В този контекст прилагането на стандартната изолация и техниките за анализ на извънклетъчните везикули, подкрепени от биоинформация и биостатистика за обработка и анализ на данни, подчерта техния потенциал като клинични биомаркери за лайшманиоза и мониторинг и като

терапевтични средства. Везикулите участват в преноса на биологично активни молекули, включително протеини, липиди, метаболити, miРНК и нуклеинови киселини. Въпреки че тяхната роля в инфекциозността и развитието на *Leishmania* все още е слабо разбрано, има неопровержими доказателства че секретирани от *Leishmania* везикули водят до ясни промени във фенотипа на клетката гостоприемник.

Екзозомите на *L. donovani* индуцират производството на неутрофилния хемокин IL-8 от диференцирани ТНР-1 макрофаги (Silverman et al., 2010a). Наскоро се появи модел, който предполага, че Лайшманията използва неутрофилите като троянски коне, за да се предават макрофаги чрез „тиха фагоцитоза“, като по този начин се избягва клетъчно активиране (van Zandbergen et al., 2004). Индуцираната от екзозома секреция на IL-8 вероятно може да доведе до ранно събиране на неутрофили към мястото на инфекцията (Peters et al., 2008; Peters and Sacks, 2009) и по този начин да допринесе за развитието на ранна инфекция.

Други функции, приписвани на везикулите, включват износа на протеини, реакцията им на промените в околната среда и модулирането на отговорът на цитокините. Съпътстващ напредък в маспектрометрията е допринесъл за идентифицирането на сложни протеини и точния анализ на сегрегация на секретомата от живите клетки (микроскопични едноклетъчни и многоклетъчни организми) в извънклетъчното пространство, което включва адхезионни молекули, хемокини, цитокини, ензими и други фактори, които са приложени успешно към откриването на протеинови биомаркери в извънклетъчните везикули. Наличните данни за изолирани субпопулации силно предполагат, че тези везикули представляват бъдещето на биомаркери в медицинската паразитология или че те са информационните вектори, които могат да променят обхвата на гените, експресирани в реципиентните клетки. Въз основа на последните постижения, очакванията за бъдещи изследвания включват разработването на алтернативни методи за изолирането им и нови техники за бърза оценка на единични субпопулации от везикули (Gabriel et al., 2021).

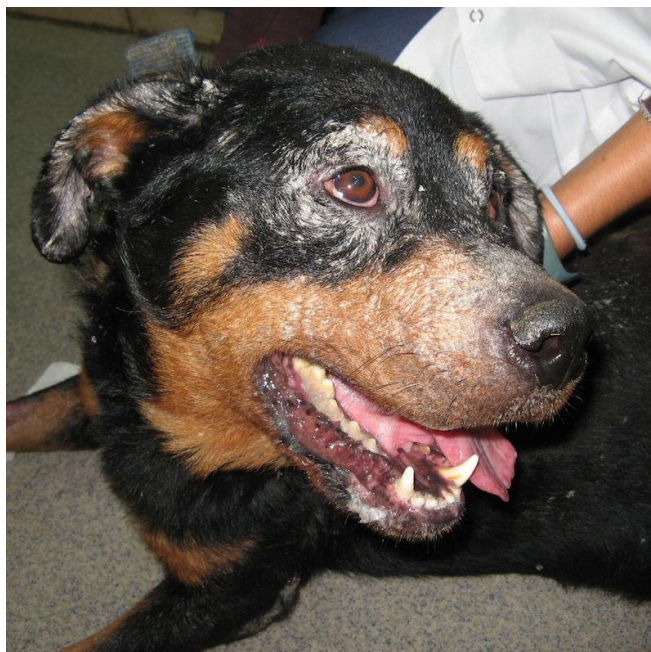
Клинични симптоми. *Клинични симптоми при хора.* Докато Лайшманиозата може да се прояви с различни клинични прояви, основните три фенотипни категории на заболяването са кожна (CL), лигавична (ML) и висцерална лайшманиоза (VL). Тези категории могат да бъдат допълнително разделени, за да обхванат спектъра от клинични заболявания, и да включват лигавична форма в Америка, висцерална и кожна от Новия свят, кожна от Стария свят, кожна пост-кала-азар, *Leishmania recidivante*, дифузна и дисеминирана кожна Лайшмания (Bennett et al., 2001).

Появата на кожно заболяване може да варира, като инфекцията може да остане безсимптомна или субклинична, но може да се прояви и като остро, подостро или като хронично заболяване. Кожните лезии обикновено се появяват на мястото на ухапване от пясъчна муха (обикновено върху добре изложени участъци на лицето и крайниците) като единична несупуративна папула, въпреки че могат да възникнат множество лезии. Кожната Лайшмания се среща във формите от Стария свят (*L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* и по-рядко *L. infantum* и *L. donovani*), както и във формите от Новия свят (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venezuelensis* и подрод *Viannia*, включително *L. V. braziliensis*, *panamensis*, *guyanensis*) (Bennett et al., 2001). В продължение на седмици до месеци папулите прогресират до безболезнени язви, които могат спонтанно да зараснат в продължение на месеци до години или да причинят белези и обезобразяване (Berman, 1997). Съществуват обаче различни атипични кожни прояви, включително нодуларни, споротрихоидни, дисеминирани, псориазиформени, верукозни, зостериформени, екзематозни и/или еризипелоидни. Други нетипични прояви включват малки сателитни лезии извън плаката/язвата (нодуларен лимфангит) (Aronson et al., 2017). *Leishmaniasis recidivans* (свързан най-често с *L. tropica*) възниква като сателитни лезии около стари белези и често се бърка с кожна туберкулоза (Burza et al., 2018). Най-обезобразяващата лигавична форма на заболяването (известна също като “*espundia*” в Латинска Америка), води до лицеви деформации обикновено години след като първоначалните кожни симптоми са отшумели. Паразитът се разпространява от амастиготите по кожата до назофарингеалната лигавица чрез хематогенната и лимфната система (Herwaldt, 1999). Макар и по-малко типични, лигавичните лезии могат също да се появят заедно с кожни прояви. Първоначално има засягане на лигавицата на носа и устата, по-късно в хода на заболяването се засяга

орофарингса и ларингса. За разлика от кожното заболяване, лигавичната лайшманиоза не се лекува спонтанно (Berman, 1997). Хрущялната преграда вътре в ноздрите обикновено е засегната и може да възникне перфорация на носната преграда. Други усложнения включват колапс на предната част на носа и разрушаване на носа и устата (Marsden, 1986; Walton, 1973).

Най-смъртоносна форма на лайшманиоза е висцералната (известна също като кала-азар, което на хинди означава черна треска), може да причини системна инфекция, засягаща черния дроб, далака, кръвоносната и лимфната система. Видовете, които обикновено се свързват с висцерална болест, включват *L. donovani*, *L. infantum* (Стария свят) и *L. chagasi* (Новия свят) (Herwaldt, 1999). Други видове, които също са свързани с висцерални заболявания, включват *L. tropica* (Стария свят), който обикновено причинява дерматологични прояви, но е описана и висцерална форма при седем военнотружещи, по време на конфликта в Персийския залив през 1990 г. *L. amazonensis* също е подозирана причина за случаи на висцерално заболяване (Herwaldt, 1999). Доклад сред пациенти в Судан описва някои от тежките прояви на заболяването, включително кахексия, хепатоспленомегалия, треска, панцитопения и хипергамаглобулинемия (Seaman, 1996). Субективните симптоми, често описвани в историята на пациенти с висцерална лайшманиоза, включват умора, коремна болка и неумишлена загуба на тегло. Сред пациентите с ХИВ, висцералната лайшманиоза се счита за опортюнистична инфекция, допринасяща за 25–70% от коинфекциите с ХИВ, докладвани в Европа (WHO). Посткала-азар дермална лайшманиоза, възникваща след първоначалния синдром на висцерална лайшманиоза, води до кожни папули и възли, често срещани по лицето, или хипопигментация на макулата. **Гломерулонефритът е отличителен белег на Лайшманиозата.**

Клинични симптоми при кучета. При кучета клиничните прояви включват кожни, кожно-лигавични и очни лезии; системни клинични признаци; и неврологични признаци. Очни, кожни и кожно-лигавични лезии могат да се развият със или без други признаци на системно заболяване. Заболяването може да бъде фатално, когато се развие тежко хронично бъбречно заболяване.



Фигура 14. Лайшманиоза при куче (<https://www.veterinary-practice.com/article/vl-canine-leishmaniosis>)

Типичните симптоми, докладвани от собствениците на кучета с лайшманиоза, включват появата на кожни лезии, очни аномалии и други признаци. Тези клинични признаци често са придружени от бледи лигавици, загуба на тегло, непоносимост към физическо натоварване и летаргия. Могат да се наблюдават загуба на козина, особено около главата и ушите, люспеста кожа и отоци и язви по краката, възглавничките на стъпалата и други области, включително устата и езика

Основните находки от физикалния преглед на лайшманиозата при кучета включват кожни аномалии, лимфаденомегалия, очно заболяване, спленомегалия и хепатомегалия.

Други клинични находки на лайшманиоза при кучета, освен дермални аномалии, включват полиурия/полидипсия поради бъбречно заболяване, епистаксис, повръщане, диария, очни аномалии и кучота в резултат на ставни, мускулни или костни лезии. Неврологични и невромускулни аномалии, както и съдови нарушения, също са документираны при лайшманиоза при кучета.

Дермалните лезии, свързани с лейшманиозата при кучета, включват ексфолиативен дерматит със или без алопеция, ерозивно-язвен дерматит, нодуларен дерматит, папулозен дерматит, пустулозен дерматит и аномалии на ноктите като онихогрифоза. Кожните лезии могат да бъдат генерализирани или локализирани, най-често по лицето, ушите и крайниците.

Язвени или нодуларни лезии на кожата и лигавиците (орални, генитални и назални) също се срещат при кучета с лайшманиоза.

Има и случаи на лека форма на папулозен дерматит при кучета без други признаци на заболяване или клинично-патологични аномалии.

Очните или околоочните лезии включват блефарит (ексфолиативен, улцеративен или нодуларен); конюнктивит (нодуларен) и кератоконюнктивит (обикновен или сух); и преден увеит.

*Наред с кучетата, има нарастващ брой проучвания, съобщаващи за инфекция на други домашни и диви животни от *Leishmania spp.**

Котки. Кожните симптоми преобладават в 65% от случаите (дерматологичните аномалии включват възли, язви и по-рядко ексфолиативен дерматит), подобни на тези, наблюдавани при кучешката лайшманиоза. Други често срещани симптоми при котешка лайшманиоза включват кожно-лигавични лезии и уголемяване на лимфните възли, главно по главата и шията или крайниците. Системните симптоми са неспецифични и сред тях се срещат лимфаденомегалия, спленомегалия, анорексия, загуба на тегло и др.



Фигура 15. Домашна котка с висцерална лайшманиоза. Лезия на преден десен крайник (<https://doi.org/10.1590/S1984-29612020099>).

Див (Европейски) заек (*Lepus europaeus*)

При зайците лайшманиозата протича безсимптомно, без да причинява заболяване, както се среща главно при диви представители.

Девет (64,3%) от 14 европейски зайци от атлантическия географски регион на Испания са били положителни за *L. infantum* на PCR, ДНК секвениране и RFLP (Анализ на полиморфизма на дължината на рестрикционните фрагменти). Проби от далак са събрани по

време на аутопсиите, извършени върху трупове на животни, намерени мъртви или предоставени от ловци от 2004 до 2010 г. RFLP моделите на щамове на *L. infantum* не са показали сходства с тези, открити преди това при диви хищници от континентална Испания (Mirzaei et al., 2013).

При мащабно проучване от юли 2009 г. до октомври 2011 г., в провинция Гранада, югоизточна Испания са тествани 150 диви зайци, от които 31 (20,7%) са били положителни за *L. infantum*. При външен оглед не е установено наличие на клинични признаци при нито едно от животните. Кожни лезии са открити при 10 екземпляра (23,3%) от 43 заека. Броят на лезиите са били разположени на задните крака, ушите или носа. При шест от тези животни е потвърдено наличието на *L. infantum* в кожата (Sánchez et al., 2021)

При други проучвания между 2013 и 2017 г., в района на Мурсия, югоизточна Испания, са установени положителни диви зайци. Тествани са тъканни проби от кожа, далак или черен дроб. При зайците кожата е най-често положителна, сравнение с другите органи. Лезии, съвместими с лайшманиоза, не са наблюдавани при нито едно от животните. Анализът на kDNA последователности е показал, че генотипът при зайците, е същият както и при домашни кучета и хора.

В област Централна Македония, Северна Гърция, между май 2014 г. и юни 2016 г. са взети проби от 292 домашни зайци (201 отглеждани в интензивни ферми и 91 в домашно отглеждани ферми). Пробите от тези домашни животни са събрани след клане в регионалните единици Солун (n = 201), Халкидики (n = 53) и Серес (n = 38). В същия времеви интервал, са взети проби от 101 диви зайци в района на остров Лемнос, Северно Егейско море, по време на два ловни сезона (от август до март), с помощта на местни ловци. Специфични IgG антитела срещу *Leishmania* са открити чрез ELISA в серума на 30 (7,6%) от 393 зайци. При молекулярен анализ чрез ITS1-PCR, паразитна ДНК е открита в три (2,6%) от 116 проби от далак на зайци. Всички проби, положителни чрез PCR, принадлежат на серопозитивни животни. Не са наблюдавани външни лезии, спленомегалия или хепатомегалия при нито един от зайците.



Фигура 15. Лайшмания при зайци (<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106036>).

В Сицилия през 2015 до 2017 г. са доказани положителни диви зайци, като при нито един от тях не са установени макроскопски промени при аутопсията (Cardoso et al., 2021).

Говеда (*Bos taurus*) През април 2009 г. Лайшмания е доказана при 7-годишна кафява крава в Швейцария. Наблюдавани са няколко улцеративни кожни лезии с диаметър 1–10 cm по муцуната, двустранно в карпалните региони, основата на ушите, вимето и гръдната стена и на корема пред вимето (Cardoso et al., 2021).

Чакали (*Canis aureus*)

При серологични проучвания в Сърбия, Грузия и Румъния са доказани положителни животни, но те не са имали клиника (Cardoso et al., 2021).

Вълк (*Canis lupus*)

През ноември 2003 г. се доказва *L. infantum* при 4-годишен сив вълк от Хърватия, намерен мъртъв в област Далмация, където кучешката лайшманиоза е ендемична. Наблюдаваните патологични прояви включват хроничен дерматит, генерализирана загуба на козина, бяло лющене, кожни ерозии и язви, кахексия, орхит, лимфаденомегалия и хепатоспленомегалия, които съвпадат с тези на лайшманиозата, описана при кучета. Амастиготи са открити в макрофаги на периферна кръв, лимфни възли, далак, черен дроб, кожа, надбъбречни жлези и тестиси.

L. infantum е доказана при различни проучвания при вълци в Португалия, Испания и Италия. Наблюдението на инфекцията с *Leishmania* в популацията на вълците в плен в Европа се препоръчва, особено в райони, където лайшманиозата по кучета е ендемична (Cardoso et al., 2021).

Червена лисица (*Vulpes vulpes*)

Правени са проучвания в различни части на Италия, Испания, Франция и Португалия, през различни периоди като са тествани трупове на отстреляни лисици. Анализите са установили, че някои от животните са заразени с *L. infantum*, но PCR-позитивните лисици при аутопсия не са имали никакви макроскопски промени, предполагащи лайшманиоза. В Гърция, ДНК на *L. infantum* е открита в далак, лимфни възли, костен мозък и/или кръвни проби на 28 (59,6%) от 47 червени лисици, намерени мъртви или заловени в периода ноември 2009 г. до 2011 г. Тези резултати съвпадат със серопревалентността, открита при кучета в района. Три от девет серума на лисици, тествани чрез IFAT, са имали IgG антитела срещу *Leishmania*. В Грузия една (2,6%) от 38 лисици, през 2012 г., е била серопозитивна за *Leishmania* (Cardoso et al., 2021).

Дива котка (*Felis silvestris*)

Налична информация за инфекцията с *Leishmania* при европейските диви котки има само от Испания и Италия, но този застрашен вид котка има фрагментирано разпространение в други европейски страни с райони, ендемични за *L. infantum*. Между 2001 и 2006 г. четири европейски диви котки, ловувани или намерени мъртви в Северна Испания, са тествани, като една е позитивирала. При аутопсията не са наблюдавани лезии, сравними с тези при кучета, засегнати от лайшманиоза. Това е първият доклад за този вид гостоприемник.

Като част от програмата за санитарен надзор на дивата природа, създадена в Астурия (Северна Испания), 149 диви хищници, включително 3 диви котки, починали поради различни причини, са били тествани между януари 2008 г. и май 2014 г. Пробите от далак от диви котки изследвани чрез PCR анализ за откриване на ДНК на *L. infantum* са били положителни. По-късно през 2015 г. и 2020 г. също е имало единични случаи на положителни животни (Cardoso et al., 2021).

Иберийски рис (*Lynx pardinus*)

Единствените данни за този гостоприемник са споменати в проучването на Sobrino et al. (2008). Един от четири риса от централна Испания е бил положителен за *Leishmania*.

Берберски лъв (*Panthera leo leo*)

През 2012 г. Лайшманиозата е диагностицирана при лъвове, отглеждани в плен в зоологическия парк в Монпелие. При клиничен преглед са наблюдавани колит с кървава диария, епистаксис и куцота с язви по четирите лапи, умерена анемия и левкоцитоза, хиперхолестеролемия и хипоалбуминемия. След проведените тестове е установено *Mycoplasma haemominutum* и *L. infantum* (Cardoso et al., 2021).

Тигър (*Panthera tigris*)

През февруари 2019 г. ДНК на *L. infantum* е била открита при кожна биопсия, взета от язва на торса на тигър, роден и отгледан в зоопарк в региона Апулия (Южна Италия). От март до юни 2019 г. са тествани още 19 индивида, родени и отгледани на същото място, от тях 25%

са били положителни на PCR, а 45% са имали антитела. Тигрите вероятно са били заразени от пясъчни мухи, тъй като между май и ноември 2019 г. *P. perniciosus* е бил най-разпространеният вид пясъчни мухи, събрани в клетките на тигрите, и интересното е, че приблизително 33% от изследваните женски са били положителни за ДНК на тигри и 5,3% за ДНК на *L. infantum* (Cardoso et al., 2021).

Египетска мангуста (*Herpestes ichneumon*)

Пет (4,7%) от 106 египетски мангусти, случайно блъснати на пътища или конфискувани в континентална Португалия, са били положителни за *L. infantum*. Положителните животни са от географските области Viseu (централна; n = 1), Portalegre (източна; n = 1) и Beja (южна Португалия; n = 3) (Cardoso et al., 2021).

Евразийска видра (*Lutra lutra*)

ДНК от *Leishmania* е била открита в далака на седем от 10 диви видри от Астурия, северозападна Испания, събрани в периода от януари 2008 г. до май 2014 г. През август 2019 г. 4-годишен мъжки индивид, отглеждан в парк за диви животни в Мурсия, югоизточна Испания, е показал изразена клика: двустранен епистаксис, анорексия, апатия и загуба на тегло. Наблюдавани са също двустранна нефропатия с хидронефроза, мезентериална лимфаденомегалия и асцит. Анализът на урината е показал протеинурия и намалена осмоларност и специфично тегло. След тестване е доказана *L. infantum* (Cardoso et al., 2021).

Белка (*Martes foina*)

При различни проучвания в Испания в районите на Естремадура, Астурия, Мурсия, Валенсия, Андалусия и Каталуния е доказана *L. infantum*, като нито едно от животните не е имало лезии, предполагащи лайшманиоза, при аутопсия (Cardoso et al., 2021).

Евразийска златка (*Martes martes*)

Три от 10 проби от златки от Испания, събрани в периода 2001 г. - 2006 г., са позитивирали за *Leishmania*. На остров Майорка, Испания, девет от 23 златки, анализирани през периода октомври 2008 г. – октомври 2009 г., са били положителни на PCR за *Leishmania*. Проби от далак от пет от 8 златки от Астурия, северозападна Испания, получени между януари 2008 г. и май 2014 г., също са били с *L. infantum*, както е установено чрез PCR. При аутопсията нито едно от животните не е имало лезии, предполагащи лайшманиоза (Cardoso et al., 2021).

Европейски язовец (*Meles meles*)

Leishmania е била доказана чрез PCR в 14 от 53 европейски язовци, събрани между 2001 и 2006 г. в Испания (провинциите Бискайя, Гипускоа и Алава). Никое от животните не е показало лезии, предполагащи лайшманиоза. Двадесет и четири от 45 европейски язовци, събрани в района на Пиемонт, северозападна Италия, между 2009 и 2017 г., са били положителни за *L. infantum* (Cardoso et al., 2021).

Европейска норка (*Mustela lutreola*)

В Испания е установена 1 положителна норка за *L. infantum*. Животното не е имало лезии, предполагащи лайшманиоза, при аутопсия (Suárez et al., 2012).

Черен (европейски) нор (*Mustela putorius*)

Една от четири проби от порове от Испания е била положителна за *L. infantum*. Животното не показва лезии, предполагащи лайшманиоза, при аутопсия (Suárez et al., 2012).

Домашен нор (*Mustela putorius Furo*)

През 2019 г. *Leishmania* е доказана при 4-годишен женски нор от Валенсия, югоизточна Испания, с проявена клиника, включваща еритематозна, едематозна, несърбяща папуларна лезия в дясната ушна мида с диаметър 5 mm (Giner et al., 2020).



Фигура 16. Еритематозна и едематозна папуларна лезия на дясната ушна мида (стрелки). На върха на ушната мида има повърхностна язва (<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100369>)

Американска норка (*Neovison vison*)

Във ферма за норки в Гърция, през април 2015 г., три (21,4%) от 14 животни са били с хеморагична пневмония. При тестване е доказана ДНК на *L. infantum* в мозък, черен дроб и слезка. Доказано е наличието и на *Pseudomonas aeruginosa*. Четиридесет от 200 американски норки, заклани или евтаназирани в шест ферми, разположени в регионалната единица Кастория, Западна Македония, Северна Гърция, са имали серумни IgG антитела срещу *Leishmania*, открити чрез ELISA. Инфекцията е потвърдена и при две от 95 животни чрез PCR в проби от слезка. Всички молекулярно положителни проби са от серопозитивни норки и при нито едно от животните не са наблюдавани външни лезии, спленомегалия или хепатомегалия.

Една американска норка, случайно убита на пътя в Каталония, североизточна Испания, е имала PCR-положителен резултат за kDNA на *Leishmania* в пробите от черен дроб и далак (Cardoso et al., 2021).

Кафява мечка (*Ursus arctos*)

Една мечка от зоологически парк в Мурсия, от която е взета проба от кожата в периода 2008 – 2017 г., е била положителна за *L. infantum*. Анализът на kDNA последователности разкрива SNP-произведен генотип 2, както при домашни кучета (Munoz-Madrid et al., 2013).

Обикновена (котешка) генета (*Genetta genetta*)

При проведени проучвания през различни периоди: 2001 г. - 2006 г., 2008 г. – 2009 г., 2011 г. - 2013 г., 2008 г. – 2014 г., 2013 и 2015 г. в различни част на Испания *Leishmania* се доказва при генети. Анализът на kDNA последователности разкрива SNP-произведен генотип 2 в този ген, както и при домашни кучета. Нито едно от животните не е имало кожни лезии, предполагащи лайшманиоза, при аутопсия (Suárez et al., 2012; Moreno et al., 2014).

Средиземноморски тюлен монах (*Monachus monachus*)

Женски средиземноморски тюлен монах, на възраст около 20 години, открит през януари 2005 г. на брега на Бодрум, югозападна Турция, е заразен с лайшмания и парапоксвирус. Патологичните находки са дълбока язва отстрани на главата, язви по венците и вътрешната страна на долната устна, увеличени лимфни възли и сливици, както и респираторни лезии (белодробен оток, кръвоизливи и емфизем; трахеална и бронхиална конгестия, ексудати и кръвоизливи). Амастиготи са демонстрирани в макрофагите в лимфните възли и далака (Toplu et al., 2007).



Фигура 17. Язви по венците и вътрешната страна на долната устна на тюлен заразен с Лайшмания (<https://doi.org/10.1016/j.jcpra.2007.02.005>)

Сивокоремна дългоопашата белозъбка (Crocідura russula)

Две (13,3%) от 15 големи сивокоремни белозъбки, уловени през 2011 г. в крайградската зона на град Барселона, североизточна Испания, са били положителни за ДНК на *L. infantum* чрез PCR в реално време в кръвта (Cardoso et al., 2021).

Кон (Equus ferus Caballus)

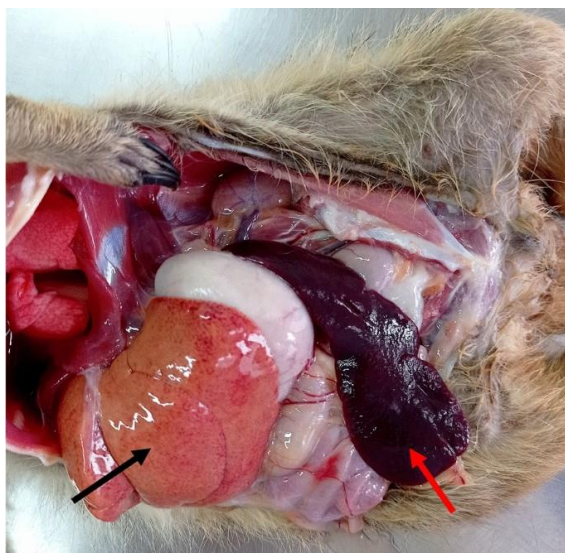
Данни за болни коне от Лайшмания има в Германия, Гърция, Португалия, Италия и Швейцария. Клиничните симптоми при всички са били само кожни промени - малки нодуларни дермални лезии или кожни нодули по главата, хълбока, аксилата, ухото или гръдния кош, при няколко случая е наблюдавана треска, анорексия и умора (Cardoso et al., 2021).

Магаре (Equus africanus Asinus)

Данни за положителни магарета има в Португалия и Италия. Животните са от райони, където инфекцията с *L. infantum* има серопревалентност при кучетата. Животните не са имали клинични изяви (Cardoso et al., 2021).

Сурикати (Suricata suricatta)

В зоопарка в Мадрид е доказана Лайшманиоза при два суриката. Единият умира и при аутопсията се наблюдават бледи лигавици, двустранна невъзпалителна алопеция и хиперпигментация в страничната област на очите. Получени са положителни резултати при серология, nested PCR и real-time PCR (кръв, конюнктивални и орални тампони, козина, далак, лимфни възли, черен дроб, бъбрек и кожа), както и множество амастиготи в проби от чернодробна и бъбречна тъкан. Другият сурикат, е жив, с проявени кожни изменения – алопеция в областта на опашката. Положителни резултати са получени чрез nested и real-time PCR от различни тъкани като кръв, козина, орални и конюнктивални тампони (Moralada-Berral et al., 2025).



Фигура 18. *L. infantum* при сурикат (Suricata suricatta). Резултати от аутопсия на сурикат, показващи спленомегалия (червена стрелка) и чернодробна промяна в цвета (черна стрелка) (<https://doi.org/10.1186/s13071-024-06647-10>).

Двуутробни бозайници

В Австралия лайшманията засяга двуутробните животни, като заболяването се проявява с кожни лезии. Лезиите са разположени дистално в области, концентрирани върху опашката, вътрешната страна на предмишниците, задните крайници и ушите. Лезиите по крайниците и опашките могат да изглеждат като фокални към сливащи се участъци с диаметър 0,5–2 cm от удебелена кожа или повдигнати променливо инкрустирани или улцеративни бледи възли. На ушите лезиите засягат предимно дисталните ръбове, като са с неправилни очертания и леко подути. Тежестта и броят на лезиите може да варира при различните засегнати индивиди.



Фигура 19: Скакателна става на валару (*Macropus robustus*) с множество гладки възли и една разязвена и инкрустирана лезия (https://www.agriculture.gov.au/biosecurity-trade/pests-diseases-weeds/animal/ead-bulletin/ead_bulletin_no_106)

Описан е автохтонен случай на висцерална лайшманиоза при отглеждано в плен 2-годишно женско валаби (*Macropus rufogriseus*), намерено мъртво в клетката си в зоопарк в Мадрид, централна Испания. Не са наблюдавани клинични признаци. При аутопсия се наблюдава увеличена слезка с тъмнокафяв до черен цвят, с множество грануломи (0,5–2 cm в диаметър). Черният дроб е тъмнокафяв и уголемен, съдържащ бели петна и малки грануломи (<0,5 cm в диаметър). Наблюдава се също белодробен оток и генерализирана хиперемия. Макрофаги с амастиготни форми са открити в далака и черния дроб чрез хистопатологичен

анализ и потвърдени чрез имунохистохимично откриване с антитела, специфични за *L. infantum*.

Кафяво прилепче (*Pipistrellus pipistrellus*)

Шестнадесет от 27 вида обикновени пипистрели от общността на Мадрид, централна Испания, са били положителни за *Leishmania*. Получените ДНК последователности са били с 98–100% хомология с *L. infantum* (Cardoso et al., 2021).

Европейски таралеж (*Erinaceus europaeus*)

Един таралеж от общността на Естремадура, Западна Испания, е имал кДНК на *Leishmania* в проба от козина, открита чрез PCR в реално време (Millan et al., 2011). При други проучвания в Каталония, Североизточна Испания са открити 22 положителни от 64 европейски таралежа, събрани след случайни смъртни случаи по пътищата (Cardoso et al., 2021).

Северозападен борнейски орангутан (*Pongo pygmaeus Pygmaeus*)

Клинична лайшманиоза е докладвана при два орангутана, настанени в два различни центрове в Мадрид, централна Испания. Първото животно е 36-годишен мъжки орангутан, роден през 1981 г. в Холандия (Ренен) и преместен през 1984 г. в Южна Испания, първо в Малага за 3 години, а след това във Валенсия, докато не е преместен в Мадрид (Райнфер) през 2008 г. Животното е прегледано през декември 2016 г. поради клинична картина, характеризираща се с тежка загуба на тегло и апатия. Обща кръвна картина и биохимичен профил разкриват анемия, неутропения, хипоалбуминемия и повишени трансаминази; хепатоспленомегалия също е наблюдавана чрез абдоминална ултрасонография. През март 2017 г. клиничните признаци се влошават. Вторият случай е женски орангутан на приблизително 34 години, роден в Кралския зоопарк Artis Amsterdam (Холандия) и преместен в зоопарка в Мадрид през 2009 г. Животното е показало силна загуба на тегло и апатия през май 2017 г., но без други видими клинични признаци. Обща кръвна картина и биохимичен профил разкриват анемия, панцитопения и хипоалбуминемия. Наблюдавани са също спленомегалия и перикарден излив. И при двата орангутана инфекцията с *L. infantum* е потвърдена чрез микроскопия (амастиготи в аспирати от костен мозък), PCR и серология (IFAT) (Cardoso et al., 2021).

Обикновена горска мишка (*Apodemus sylvaticus*)

В Испания са открити положителни проби за *L. infantum* от горски мишки, в периода 2008–2017 г. Кожни лезии не са наблюдавани при нито едно от животните (Moreno et al., 2014).

Домашна мишка (*Mus musculus*)

В Португалия, Гърция и Испания са тествани мишки за Лайшмания. Някои от тях са били заловени в рамките на програма за борба с гризачи в приюти за кучета или в жилищни райони, без клинични изяви. Липсата на кожни лезии предполага непатогенен ход на инфекцията. В община Чаучина, провинция Гранада, Южна Испания, в периода февруари–март 2018 г., са изследвани бременни мишки и е установено предаване от майка на ембрион при всички женски индивиди, чийто гестационен стадий е бил достатъчно напреднал, за да позволи фетален анализ.

Алжирска мишка (*Mus spretus*)

Данни за този вид има само от Испания, при тестване на индивиди хванати в капани.

Кафяв плъх (*Rattus norvegicus*) и чепен плъх (*Rattus rattus*)

В Кипър 19 от 344 кафяви плъха и 17 от 152 черни плъха събрани в периода 2000–2003 г. на 51 различни места в пет префектури, са били положителни за IgG антитела срещу *L. infantum*, открити чрез Indirect Fluorescent Antibody (IFAT) test.

В крайградските райони на градовете Атина и Пирея, Централна Гърция, един от 16 кафяви плъха, хванати живи, е бил положителен за *L. infantum*. В Централна Македония

(префектури Халкидики, Иматия, Килкис и Солун), Северна Гърция, седем от 10 кафяви плъха и три от 12 черни плъха, събрани по време на програми за борба с вредителите, от декември 2013 г. до януари 2016 г., са били положителни за IgG антитела срещу *Leishmania*. Не са наблюдавани външни лезии, спленомегалия или хепатомегалия.

В община Синтра, Южна Португалия, един от три кафяви плъха, получени между май и октомври 2011 г., е бил едновременно положителен за амастиготи в чернодробни и далакови натривки. Животните са били заловени в рамките на програма за борба с гризачи в два частни приюта за кучета.

В Испания също има данни за положителни за *Leishmania* плъхове. Анализът на kDNA последователностите на *Leishmania* от животни заловени в района на Мурсия и Аликанте, разкрива SNP-произведен генотип 2 при един плъх, както и при домашни кучета. При заразените животни не са наблюдавани нито спленомегалия, нито хепатомегалия.

На остров Монтекристо, Италия, 11 от 71 черни плъха, уловени през 2011 и 2012 г., са били положителни за *L. infantum*. При аутопсията не са регистрирани аномалии. Една (20,0%) от пет пясъчни мухи *Phlebotomus mascitii*, е дала положителен тест за PCR за *L. infantum*. Тези открития показват, че в изолирана среда, където въвеждането на заразени гостоприемници може да бъде изключено през последните години, черните плъхове могат да поддържат *L. infantum* при липса на кучета или други месоядни животни (Cardoso et al., 2021).

Обикновена катерица (*Sciurus vulgaris*)

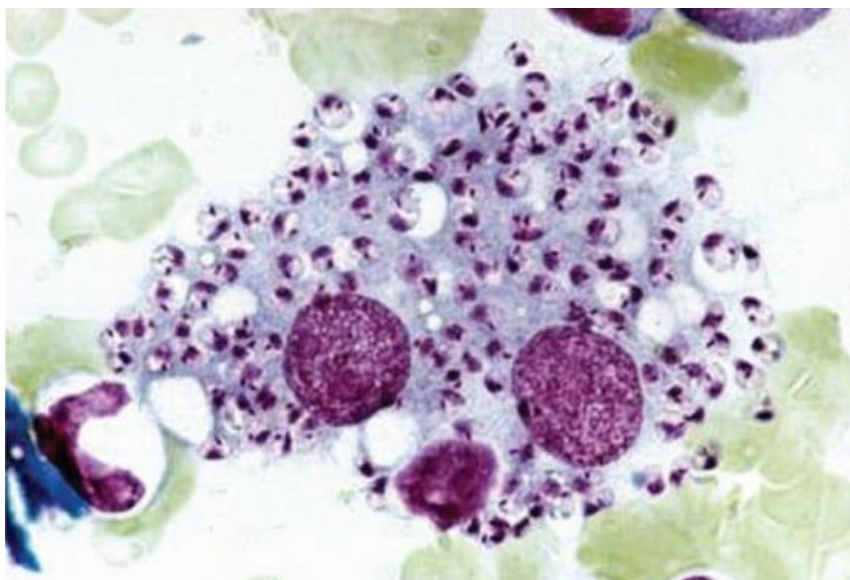
Пет от 25 катерици, събрани след случайни смъртни случаи по пътищата в Каталония, североизточна Испания, са били положителни за *Leishmania*.

За птици носители на *L. Infantum* има данни от проучване в Южна Италия, в регионите Апулия и Базиликата, през периода декември 2005 г. до март 2006 г. Установени са три от 34 сиви гъски (*Anser anser*) и 1 от 5 обикновени фазана (*Phasianus colchicus*) (Cardoso et al., 2021).

Диагностика. Диагнозата на Лайшманиозата често е предизвикателство, но може да бъде поставена пряко чрез установяване на паразита и/или индиректно - имунологично. Анамнезата, епидемиологията, клиничните симптоми и признаците при физикален преглед са насочващи при поставянето на диагноза лайшманиоза. Безболезнена, негнойна кожна язва по лицето или крайниците при лице, което скоро е пътувало или мигрирало от ендемична област, трябва да насочи към кожна лайшманиоза. Алтернативно, продължителна треска, умора, загуба на тегло, анемия, левкопения и хепатоспленомегалия при пациент от ендемичен регион като Африка може да предполага висцерална лайшманиоза (в допълнение към ХИВ, туберкулоза и злокачествено заболяване).

Най-успешният подход за идентифициране на заразен с *Leishmania* кучета е комбинацията от серология и молекулярни изследвания. Сред съществуващите имунологични техники най-често използваните са IFAT и ELISA, като и двата са препоръчани за наблюдение на лайшманиоза от Световната организация за здравеопазване на животните (WOAH, 2021).

Микроскопското идентифициране – за това изследване тъкан може да бъде събрана чрез изстъргване, биопсия или аспирати. За CL, се изследва язвата (Aronson & Joya, 2021), а при VL се прави биопсия, като биопсията на далака дава най-висок процент положителни проби (> 90% чувствителност), въпреки че тази процедура носи висок риск от животозастрашаващо кървене. Следователно, костният мозък е предпочитаният първи източник въпреки по-ниската чувствителност (50–80%), докато други потенциални източници на тъканни проби включват черния дроб, увеличените лимфни възли и цяла кръв, особено при имунокомпрометирани гостоприемници (Burza et al., 2018). Кръвните проби обикновено не са диагностични, освен при ХИВ или имунокомпрометирани пациенти, които може да имат по-високи нива на паразитемия (Burza et al., 2018).



Фигура 20. Изображенията на амастиготи в човешки макрофаги ($\times 100$, оцветяване по Giemsa), (Alireza Dolatyar Dehkharghani, doi:10.4103/2229-5070.129160)

Като цяло, за да се подобри чувствителността на диагностиката на лайшманиозата, трябва да се използват различни диагностични методи и да се вземат множество тъканни проби от различни места, особено при хронични кожни лезии и заболявания на лигавицата, където присъстват по-малко паразити (Burza et al., 2018). Микроскопското откриване на стадии на амастигота в рамките на или близо до макрофагите с помощта на оцветена тъкан по *Giemsa* потвърждава диагнозата лайшманиоза, въпреки че идентифицирането на ниво вид не е възможно въз основа на морфологията. При оцветяването по *Giemsa* цитоплазмата се оцветява в синьо, а ядрото и кинетопластът се оцветяват в червено до лилаво. Винаги трябва да се има в предвид, че има и други причини за „точковидни“ организми (напр. *Histoplasma capsulatum* или *Sporothrix* sp.) (Herwaldt, 1999).

Макар и много по-малко чувствителна, хистопатологията може също да се използва за потвърждаване на диагнозата лайшманиоза. Находките варират от некротизиращи грануломи до възпалителна инфилтрация, некротична язва, паракератоза и интраепителни абсцеси.

Културална диагностика - Различните видове лайшмании могат да бъдат поддържани продължително време в хранителни среди като промастиготни форми. Като материал за изследване най-често се използват аспирати от костен мозък, слезка, черен дроб, лимфен възел и много рядко кръв

Имунологична диагностика за откриване на антиген или антитела

Методи за откриване на антиген. Методът за откриване на антиген, използващ латексна аглутинация, наречен КАtex, има отчетена 93% специфичност, но по-ниска 64% чувствителност (Burza et al., 2018). Разработени са и ELISA тестове за уринен антиген с чувствителност над 90%. И накрая, интрадермалното кожно изследване, „Montenegro” или Лайшманиновият тест, е реакция на свръхчувствителност от забавен тип, подобна на туберкулиновия кожен тест на Манту. Тестът не е широко достъпен и може да бъде полезен за епидемиологични проучвания за идентифициране на високорискови популации. Положителни резултати от теста могат да се наблюдават при пациенти с лигавична и кожна форма (Burza et al., 2018) въпреки това, тези с активна висцерална и дифузна кожна лайшманиоза обикновено са отрицателни при теста. Освен това тестът не може да разграничи настоящите инфекции от предишни (Organization PAHO).

Методи за откриване на антитела. Оценката за антитела, обикновено на IgG се прави чрез директна аглутинация, ELISA, имунофлуоресценция и Western Blot. Тези серологични тестове обикновено не са полезни в случаите на CL, но могат да бъдат от полза при диагностицирането на ML и VL (Burza et al., 2018).

Бърз диагностичен тест за антитела, наречен rK-39 (чрез ELISA и имунохроматография), с търговски имена Kalazar Detect, Diamed-IT Leish и Onsite Leishmania Ab Rapid Test, включва откриването на антитела срещу протеиновия антиген K39, открит в *Leishmania*. Тези тестове съобщават за над 90% чувствителност и специфичност за диагностициране на VL от определени региони. Антителата срещу *Leishmania* също така могат бързо да се оценят чрез теста за директна аглутинация (DAT) с чувствителност над 95% и специфичност от 85% (WHO). Докато тестовете за антитела могат да реагират кръстосано с други инфекции като туберкулоза и малария, те също имат намалена чувствителност в специфични географски региони и не трябва да се използват при пациенти, които са имали анамнеза за предшестваща инфекция с Лайшмания (тъй като антителата могат да персистират при пациенти след лечение) или които са асимптоматични (тъй като антителата могат да бъдат открити при асимптоматични индивиди от ендемични райони) (Berman et al., 1997). Имунохроматографски анализ за бързо откриване на антиген на *Leishmania*, е нов имунологичен тест, който може да се използва върху улцеративни кожни лезии за диагностициране на CL (Aronson & Joya, 2021).

Молекулярнобиологична диагностика PCR. Този метод е много чувствителен и дава възможност за кратко време да се постави диагнозата (WHO). Тестването на EDTA проби се приема като подходящ подход в определени сценарии, въпреки че тестването на пълна кръв с PCR се счита за по-малко чувствителен метод (Stoimenov&Chkarova, 2024). Конвенционалният PCR, насочен към kDNA, също се приема за високочувствителен метод.

Лечение

Подобно на диагнозата, лечението на Лайшманиозата може да бъде трудно. Лечението на кожната лайшманиоза се основава на клиничното представяне, гостоприемника и типа на Лайшмания. При имунокомпетентен индивид, без данни за мукозно заболяване, кожната лайшманиоза, причинена от *L mexicana* и *L major*, не изисква лечение, тъй като обикновено отзвучава спонтанно (Berman et al., 1997). Въпреки това, се препоръчва локално лечение за прости лезии, които не преминават самостоятелно, докато системно лечение се препоръчва за усложнените случаи. Налични са множество системни терапии включващи петвалентни антимиони (меглумин антимионат и натриев стибоглюконат), амфотерицин (дезоксихолат и липозомна формулировка), пентамидин и перорални терапии (включително флуконазол и милтефозин). За прости лезии се използва също и фото или лазерна терапия, термотерапия, паромомицин и антимиони (Aronson & Joya, 2021). Термотерапията се използва все повече в Южна Америка и се свързва с намаляване на лезията и клинично излекуване.

За разлика от кожната, лигавичната лайшманиоза не отзвучава спонтанно и може да доведе до прогресивно разрушаване, обезобразяване и дори смърт (поради аспирационна пневмония или респираторна обструкция). В резултат на това, след обстоен назоорофарингеален преглед, ранната системна терапия е оправдана. Препоръчва се наблюдение на пациентите и профилактични стероиди при хора с риск от респираторна обструкция, която може да се влоши от започване на терапия срещу лайшманиоза (Aronson et al., 2017).

Висцералната лайшманиоза е най-сериозната проява на заболяването, като всяко лице с признаци и симптоми и потвърдена диагноза, изисква ранна системна терапия. Петвалентните антимиони по-рано се считаха за стандартна терапия, но има опасения за развитие на резистентност сред видовете *Leishmania*. Друг препарат е липозомален амфотерицин В, като за лечение на имунокомпетентни пациенти се обмисля използването и на милтефозин (Aronson & Joya, 2021).

Петвалентните антимиони могат да се използват като алтернатива за хора с лайшманиоза, които имат непоносимост към липозомален амфотерицин В или милтефозин в области с известни модели на ниска лекарствена резистентност. Имунокомпрометирани пациенти (напр. ХИВ или пациенти с трансплантация) в идеалния случай трябва да получават липозомален амфотерицин В; въпреки това може да се обмисли и комбинирана терапия с милтефозин. При пациенти, които имат рецидив, се препоръчва повторно лечение (обикновено

с липозомален амфотерицин В) и трябва да се обмислят по-продължителни схеми на лечение (Aronson & Joya, 2021).

Има разработена ваксина срещу лайшманиоза от трето поколение, ChAd63-KH, за индуциране на специфични за Лайшмания CD8+ Т клетки (Younis et al., 2021). Европейската многовалентна ваксина за човешка висцерална лайшманиоза (MeLeVaClin) е в процес на предклинично изпитване (Uwishema et al., 2022).

Таблица 2. Механизми на действие на лекарствата за лечение на лайшманиоза (Moncada-Diaz, et al., 2024).

Лекарства	Начин на действие и насоченост към паразити
5-валентните антимонови препарати	Инхибира митохондриалния ензим трипанотион редуктаза, увеличавайки чувствителността на паразита към оксидативен стрес, генериран от макрофага по време на инфекция. Може да възпрепятства основни енергийни пътища, като окисление на мастни киселини и гликолиза.
Милтефозин	Инхибира ензима цитохром ц-оксидаза, разположен в митохондриите, като по този начин директно влияе върху производството на енергия в паразита. Също така инхибира синтеза на фосфатидилхолин, който влияе върху липидния метаболизъм чрез CDP-холиновия път, като действа върху активността на СТР-фосфохолин цитидилилтрансферазата.
Липозомен амфотерицин В	Образува трансмембранни канали през клетъчната стена и е известно, че има висок афинитет към ергостерола, причинявайки микропори в мембраната, увеличавайки пропускливостта и загубата на йони и водещи до клетъчна смърт.
Паромомицин	Инхибира цитозолната рибозома, като повлиява синтеза на протеини чрез свързване с 16S рибозомната единица и създава промяна в нейната структура.
Пентамидин	Инхибира синтеза на ДНК и протеини и причинява спиране на клетъчния цикъл във фазата G2/M. Инхибира РНК полимеразата, което води до апоптоза. Инхибира транспорта на аргинин.

Лечение на лейшманиоза при кучета

Лайшманиозата е заболяване, което причинява смърт при повечето засегнати кучета, ако не получат лечение. Терапията само минимизира симптомите и удължава живота на животното, но рядко елиминира паразита. Лечението обаче ограничава риска от предаване, подобрявайки качеството на живот на животното. Лечението трябва да бъде постоянно през целия живот на животното, като изисква периодични проверки. При определени обстоятелства може да се препоръча евтаназия.

Стратегиите за лечение варират в зависимост от географския район, щама на Лайшманиозата и симптомите, които кучето проявява. Към днешна дата най-често използваните лекарства в Европа са меглумин антимионат, със или без алопуринол. След отшумяване на клиничните симптоми, алопуринолът често се използва като поддържаща терапия, често доживотно, тъй като е доказано, че предотвратява рецидиви.

Такива рецидиви са често срещани след лечение и много лекарства имат важни странични ефекти. През последните години продължителността на лечението се е увеличила; това може да се дължи на резистентността, развита от паразита към често използвани

лекарства. Следователно и за да се избегне прогресията на такава резистентност, при кучетата трябва да се използват различни лекарства, както при хората.

LetiFend®, LETI Pharma, S.L.U., Spain е ветеринарна ваксина, използвана при кучета за защита от лайшманиоза, причинена от паразита *Leishmania infantum*. Letifend® съдържа активното вещество протеин Q, което е изградено от различни фрагменти от протеини от *Leishmania infantum*. Преди ваксинацията кучетата трябва да бъдат тествани за инфекция с *Leishmania*. Само незаразени животни трябва да бъдат ваксинирани. Ваксината се прилага на кучета от 6-месечна възраст като еднократна инжекция под кожата. „Бустерна“ инжекция трябва да се прилага всяка година, за да се поддържа ефекта на ваксината. Защитата започва четири седмици след ваксинацията и продължава една година.

Canileish®, VIRBAC е ваксина регистрирана в Европа и в България за активна имунизация на незаразени кучета с *Leishmania* от 6 месечна възраст. Ефикасността на ваксината е демонстрирана при кучета в области с висок риск от естествено опаразитяване и високо напрежение на инфекция. Начало на имунитета е 4 седмици след първия ваксинален курс. Продължителност на имунитета: 1 година след последната реваксинация.

В Бразилия е регистрирана ваксината Leish-Tec®, Ceva Santé Animale.

Въпреки че тези ваксини могат да намалят риска от клинични признаци и прогресия на заболяването, те не гарантират пълна защита срещу разпространението на инфекцията, и заразените кучета все още могат да служат като потенциални резервоари за паразита. Следователно, има належаща нужда от по-нататъшни проучвания, които са необходими за разработване на по-ефективни стратегии, способни да предотвратят инфекцията и да контролират разпространението на това заболяване както сред кучетата, така и сред хората.

Лечение и профилактика на лайшманиоза при котки

Подобно на това, което се прави при кучетата, лечението при котките се състои в преодоляване на паразита и симптомите, въпреки че основният проблем е да се предотврати заболяването и да се поддържа имунната система възможно най-активна, за да се избегне инфекция или рецидив.

Поради липсата на проучвания за ваксини срещу лайшманиоза при котки, най-добрата стратегия за предотвратяване на инфекция с лайшманиоза при този вид би била използването на локални инсектициди, прилагайки химични съединения с репелентно действие срещу пясъчни мухи, подобни на тези, използвани при кучета. Използването на този вид превантивни методи срещу пясъчни мухи е ключов фактор за избягване на лайшманиоза, особено при котки, живеещи в райони с висок риск, като например Средиземноморския басейн. Репелентите при котките се прилагат под формата на пипета, каишка или аерозоли, за да ги предпазят от вектора. Изборът на продукта обаче трябва да бъде контролиран от ветеринарен лекар, за да се гарантира както ефикасността на продукта, така и здравето на животното (т.е. повечето пиретроиди, като перметрин и делтаметрин, не могат да се използват при котки поради тяхната токсичност за този вид).

Лекарствената резистентност

Лекарствената резистентност е основен здравен проблем на съвременното, причинявайки сериозни икономически загуби, свързани с високи разходи за лечение и намаляване на ефективността на лекарствата, неуспехи на лечението и рецидиви, по-висок риск от разпространение на болести и по-дълги хоспитализации. Този проблем представлява и значителна социална тежест, свързана с трудния достъп до възможности за лечение за хора с ограничени ресурси в слабо развитите страни, увеличавайки заболяемостта и смъртността, както и влияейки върху качеството на живот на пациентите и техните семейства. Заболяванията, причинени от лекарствено-резистентни микроорганизми, са доказано глобално предизвикателство с намаляващи нива на успешни лечения, ограничавайки наличните възможности и потенциално водещи до нелечими заболявания. Тези резистентни инфекции могат да бъдат причинени от няколко фактора, свързани със самия микроорганизъм, като неговото генетично разнообразие, хоризонтален трансфер на гени и генетични мутации, индуцирани от околната среда, които причиняват анеуплоидии и полигенни резистентни фенотипове. По същия начин, други фактори, свързани с човешкия гостоприемник, като

нарушения на имунната система, както и злоупотребата с антимикробни лекарства по време на медицински процедури и разпространението им в околната среда от селскостопанската и ветеринарната индустрия, допринасят значително за лекарствената резистентност (Moncada-Diaz et al., 2024).

Няколко често срещани стратегии са докладвани за развитието на лекарствена резистентност при бактерии, гъбички, протозойни паразити и дори в човешки ракови клетки. Тези стратегии се разделят на четири основни категории:

- ограничаване на усвояването на лекарства;
- увеличаване на ефлукса на лекарства;
- инактивиране на лекарства;
- модификация на лекарствената мишена.

Намаленото усвояване и увеличеният ефлукс на антибиотичните лекарства през мембранните помпи са най-известните механизми, които водят до мултилекарствена резистентност при различни микроорганизми, особено при бактерии. Ефлуксните помпи са трансмембранны протеини, които могат да разпознават и изхвърлят различни токсични химикали и антимикробни съединения от клетката и се използват за намаляване на нивото на клетъчните концентрации на антибиотици. Други често срещани механизми при бактериите са пряко свързани с целевите места: модификацията на мишената, заместването ѝ с нови мишени с подобни функции, защитата на целевите места, като рибозомни защитни протеини и масивното производство на мишената, надвишаващо капацитета на антибиотика

Механизмите на резистентност са значително по-малко проучени при протозойни паразити от семейство *Trypanosomatidae*. Като цяло, протозойните паразити също притежават необходимия механизъм за ограничаване на усвояването, инактивиране или увеличаване на активния ефлукс на лекарството, както и инструментите за модифициране на целта на лекарството. Доказано е, че загубата на мембранны транспортери може да генерира резистентност към лечението поради намаляването на натрупването на лекарства в паразитните клетки. Механизмите на придобита резистентност при видовете *Leishmania* са свързани с повишена регулация на протеини, които разграждат или намаляват токсичните ефекти на тези лекарства, намаляват навлизането на лекарства и увеличават износа чрез транспортери. Молекулярните механизми на резистентност при *Leishmania* са описани предимно за антимоно, но е важно да се разберат и механизмите, които придават резистентност към други лекарства, използвани за лечение на лайшманиоза, особено като се имат предвид комбиниранияте терапии, към които паразитите също могат да развият резистентност.

Геномът на *Leishmania* има висока пластичност, което му позволява да развива геномни модификации като механизъм за оцеляване в отговор на стресови условия. Тези промени могат да променят нивата на експресия на определени гени и да играят важна роля в резистентността на паразита към лекарства, често използвани за лечение на заболяването. Някои от тези геномни промени, които засягат или модулират нивата на генна експресия, са анеуплоидии, генетични амплификации и генни делеции. Тези промени обикновено регулират експресията на лекарствени мишени, лекарствени транспортери или ензими, свързани с инактивирането на лекарства, но съществуват и други модификации, които са свързани със специфични промени в последователността на ген, които модифицират или променят структурата и/или функцията на протеините, както обикновено се случва с някои еднонуклеотидни полиморфизми.

Най-често срещаните гени, за които е установено, че участват в резистентността към антимоно чрез промени в тяхната пloidност, са MRPA, APX и G6PDH (Таблица 3). Промени, свързани с анеуплоидии, са докладвани в РММ-резистентни щамове. Съобщава се и за делеции на гени и мутации, особено делеции на нуклеотиди; тези мутации могат да бъдат самостоятелно или придружени от делеции на гени или амплификации на гени, както е в случая с мембранныя транспортер, свързан с усвояването на антимоно, който е AQP1, чието действие е свързано както с антимоно, така и с пентамидин. Други мутации, свързани с видове, резистентни към антимоно, съответстват на промени в протеина на мултилекарствената резистентност 1 (MDR1). От друга страна, при паразити, резистентни към AmB, са докладвани

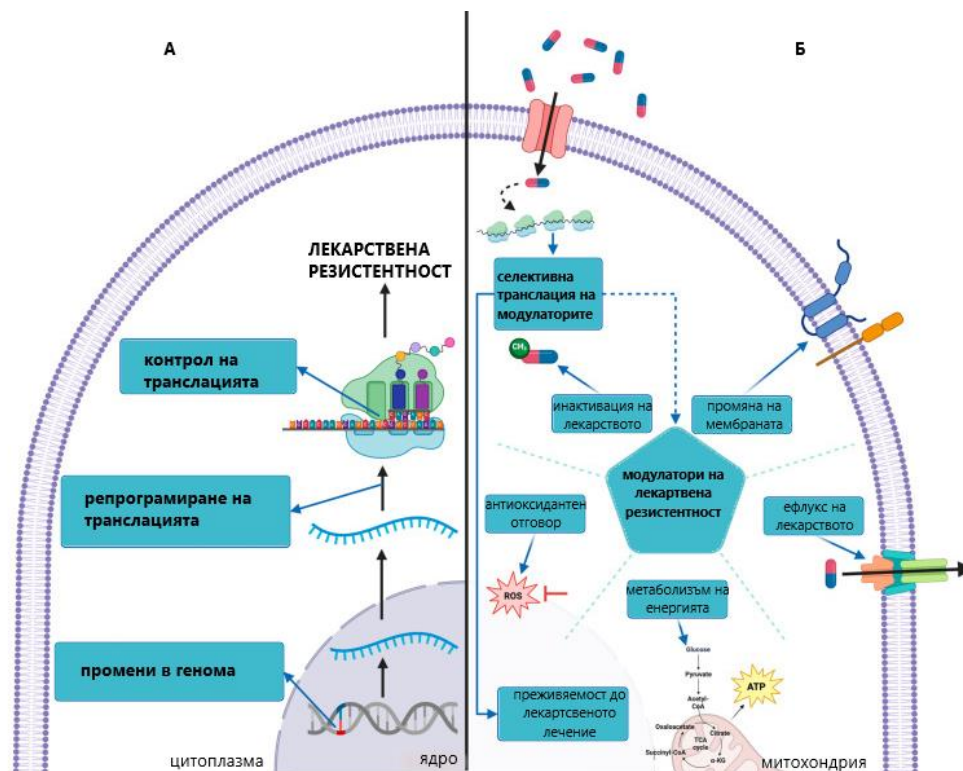
и 8 Kb делеция в гена, който кодира 24-стерол метилтрансфераза (SMT), или мутации в стерол C5-десатураза (SC5D) или стерол 14-деметилаза (CYP51). Описани са мутации на милтефозин (MLT) в гена на MLT транспортера, които са свързани и с кръстосана резистентност към AmB; по подобен начин, делецията на MLT-чувствителния локус е докладвана при четири вида *Leishmania* (Moncada-Diaz et al., 2024).

Таблица 3. Геномни промени, свързани с лекарствена резистентност (Moncada-Diaz et al., 2024).

Име на лекарството	Ген	Геномни промени	Ефект, свързан с лекарствена резистентност
Антимонови препарати	MRPA	Усилване (амплификация)	Увеличаване на ефлукса на лекарства
	APX	Усилване (амплификация)	Защита от натрупване на ROS (реактивни кислородни видове)
	G6PDH	Усилване (амплификация)	Защита от натрупване на ROS (реактивни кислородни видове)
	AQP1	Усилване (амплификация), делеция	Намалява усвояването на лекарства
	MDR1	Точкова мутация	Увеличаване на ефлукса на лекарства
Амфотерицин В	SMT	Делеция	Намалява усвояването на лекарства
	SC5D	Точкова мутация	Променя биосинтеза на стеролите
	CYP51	Точкова мутация	Променя биосинтеза на стеролите
	LMT	Делеция, Точкова мутация	Променя биосинтеза на стеролите
Милтефозин	LMT	Делеция	Намалява усвояването на лекарства
Паромомицин	Gene 18S RNA	Точкова мутация	Намалява свързването на паромомицин

Геномни промени, като анеуплоидии, генни делеции и еднонуклеотидни полиморфизми, биха могли да променят генната експресия и протеиновата функция, особено в отговор на често използвани лечения като Антимонови препарати, Амфотерицин В, Милтефозин и Паромомицин. Въпреки обширните изследвания, които вече са проведени, съществуват значителни пропуски в разбирането на пълната картина на лекарствената резистентност при паразитите *Leishmania*. Взаимодействието между геномните промени и транслационния контрол, както и как двата процеса влияят върху механизмите на резистентност, все още не са ясни. Променливостта в регулацията на механизмите на резистентност между различните видове *Leishmania*, различните етапи от жизнения цикъл по време на инфекционните процеси също изисква повече изследвания. Освен това, точните

механизми на транслационния контрол и техният принос към резистентността, като ролята на транслационното репрограмизиране в превантивните адаптации, изискват по-нататъшно изследване чрез валидиране на гени, свързани с резистентност. Остава неизвестно дали съществуват подобни механизми за транслационно препрограмиране при паразити, които са резистентни към различни лекарства, и какви разлики проявяват паразитите в отговора си към различни лекарства на транслационно ниво.



Фигура 21. Молекулярни механизми на лекарствена резистентност при *Leishmania*.
(doi:[10.3390/pathogens13100835](https://doi.org/10.3390/pathogens13100835)).

Механизмите, използвани от *Leishmania* за развитие на лекарствена резистентност, включват промени на геномно и транслационно ниво. Резистентните паразити притежават ремоделиран транслационен профил, който е различен от профила на чувствителни паразити, дори при липса на антимоново лекарство, което служи като превантивна адаптация към лекарственото предизвикателство (Фигура 21 А). Това показва реакцията на лекарствено-резистентните паразити към лекарствено предизвикателство. След като резистентният паразит разпознае наличието на лекарството, той активира селективната транслация на mRNA, кодиращи модулатори на лекарствена резистентност. Тези модулатори участват в различни механизми за отговор, като ремоделиране на повърхностни протеини, ефлукс на лекарството, оптимизиране на енергийния метаболизъм, антиоксидантен отговор и инактивиране на лекарства. Заедно тези механизми действат бързо и координирано, за да се борят с лечението (Фигура 21 Б).

Изследването на ролята на различни протеини в специфични пътища на транслационен контрол или стрес отговора може да доведе до обещаващи стратегии за борба с лекарствената резистентност при *Leishmania spp.* Изследването на ролята на не кодиращите РНК по време на регулирането на генната експресия и транслацията може да осигури нови фармакологични мишени за разработването на нови терапевтични средства.

Лайшманиоза при хората в България

От началото на 2025 година в региона на Южна България се наблюдават отново случаи на висцерална лайшманиоза – от месец януари досега са констатирани 6 случая в Пловдив, 4

в Стара Загора, и единични случаи в Кърджали, Хасково и Пазарджик (НЦЗБП³). Последното проучване за България на заболяването е на Вутова и сътр. през 2024 г. Те са включили в наблюдението си 58 пациенти с висцерална лайшманиоза за периода от 1976 г. до 2021 г. Възрастта на пациентите им варира от 1 до 76 години (средна възраст 37 - 12,6), от които 43 (74,1%) мъже и 15 (26%) жени. Общо 7 от пациентите (12,1%) са били деца и 51 (87,9%) са били възрастни (Vutova et al., 2024). Според проучване на Харизанов и сътр., за периода 1988 – 2011г. заболяването е много разпространено при децата – 68 (56.67%) от болелите са деца до 18 – годишна възраст, а 52 (43.34%) възрастни. Той посочва, че най-засегната е групата на децата от 1 до 2- годишна възраст (18 случая – 15.0%), следвана от тази на децата до 1 г. (15/12.50%), като децата от 0 до 5-годишна възраст са преобладаваща част от всички болели – 48 (40%) (Harizanov et al., 2012).

Случаи на заболяване от Лайшманиоза се регистрират през всички месеци на годината, като оптималното време за заразяване (свързано с активност на флеботомите) е през летните месеци (юни – октомври), а средния инкубационен период варира от няколко седмици до 6 месеца, което е характерно за средиземноморския тип лайшманиоза (Харизанов Р., 2012).

Лайшманиоза при кучета в България

В България първите проучвания върху лайшманиозата по кучетата са извършени от Дреновски през 1941г. в района на град Петрич. По-късно Матов и Филипов продължават проучванията в тази област (Матов, 1958, Филипов и сътр., 2003).

През 2004 г. Цачев и сътр. правят скрининг за наличие на лайшманиоза в кръвни серуми, в 11 района от цялата страна – Пловдив, Стара Загора, Ямбол, Бургас, Благоевград, Варна, Силистра, Русе, Велико Търново, Плевен, Монтана, като всички проби са били отрицателни. През 2006 г. Цачев доказва за първи път у нас лайшманиоза при две кучета в град Петрич. Животните са били със силно изразена клиника (Tsachev et al., 2007, 2010; Цачев, 2009). През 2007г. Цачев и сътр. продължават проучванията при 321 домашни и служебни кучета в граничните райони на България, като доказват отново наличието на паразита при някои от изследваните животни. Клиничните симптоми, които описват авторите са: увеличени лимфни възли, алоpecia по ушите и тялото, ексофолиативен дерматит, бледи лигавици, кахексия, конюнктивит и кожни улцерации, назална хиперкератоза и треска. Едно от кучетата от Стара Загора е първия случай на трансгранична лайшманиоза у нас през 2007 година,

Стоименов и Чакърова през 2024 г. продължават изследванията за Лайшмания. В техните проучвания освен кучета с клинични признаци от обл. Петрич и обл. Костинброд, свързани с лайшманиоза, те докладват и за антитела срещу *L. infantum* открити при бездомни кучета от райони (област София-град), където заболяването не е докладвано преди това. Общият процент на серопревалентността, която откриват е 8,3%, подобна на тази измерена през 2007 г. в ендемичните райони от Цачев и кол. (Stoimenov, & Tchakarova, 2024 a,b)

Изводи и препоръки

- Лайшманиозата е пренебрегвано паразитно заболяване, трудно за диагностициране и лечение. Напредъкът в разработването на ваксини, диагностиката, докладването и лечението може да предотврати значителната заболеваемост и смъртност от това заболяване.
- Увеличеното движение на животни и хора, глобалното затопляне, разширяването на разпространението на векторите увеличават риска от разпространение на Лайшманиозата. Необходими са мащабни полеви проучвания, за навременно откриване на заболяването както в ендемични, така и в неендемични райони на територията на България.
- Фактът, че основният контингент от болели са автохтонни случаи е убедителен показател за наличието на местна огнищност (природна/синантропна) на Лайшманиоза.
- Токсичността на лекарствата, цената и възникващата лекарствена резистентност ограничават антипаразитното лечение. За съжаление, няма молекулярни маркери за

³ НЦЗБП – Национален център по заразни и паразитни болести

лекарствена резистентност за *Leishmania* и тестовете за лекарствена резистентност са ограничени. Петвалентният антимононал се счита за исторически стандарт за лечение, но неподходящите режими на дозиране и лечение вероятно са допринесли за повишаване на лекарствената резистентност към този агент.

- Най-успешният подход за идентифициране на заразени с *Leishmania* кучета е комбинацията от серология и молекулярни методи.

- Превантивните мерки приложими в случаите на разпространение на Лайшманията, включват:

- контрол на резервоарите, чрез серологични и молекулярни техники (PCR) за откриване на циркуляцията на *Leishmania* в животинските популации.
- контрол на вектора, чрез мониторинг в рисковите точки чрез събиране на проби с капани.
- контрол на околната среда, чрез въвеждане на санитарни мерки в рисковите точки (почистване, почистване на канализация, премахване на боклук и отломки, отстраняване на утайки и др.).
- комуникация и образование, като допълнение към засилването на наблюдението, е насърчаването на информираността на здравните и ветеринарните специалисти, както и хората в ендемичните райони.

Литературни източници:

1. Матов К., Паразитология и арахноентомология. София, Земиздат. 96-97. 1958.
2. Цачев И. Екзотични зоонози по кучетата в България (моноцитна ерлихиоза, гранулоцитна анаплазмоза, висцерална лайшманиоза). Дисертация. 2009.
3. Филипов Г, Харизанов Р., Йорданова Д., Вучев Д., Курдова Р., Димитров Х. Съвременен състояние на висцерална лайшманиоза в България. Инфектология 4: 29-31, 2003.
4. Akhoundi M, T Downing, J Votýpka, K Kuhls, J Lukes, A Cannet, C Ravel, P Marty, P Delaunay, M Kasbari, B Granouillac L Gradoni, D Sereno. Leishmania infections: molecular targets and diagnosis. Mol. Asp. Med. (2017)
5. Aoun O, Mary C, Roqueplo C, Marié JL, Terrier O, Levieuge A, Davoust B. Canine leishmaniasis in south-east of France: screening of *Leishmania infantum* antibodies (western blotting, ELISA) and parasitaemia levels by PCR quantification. Vet Parasitol. 2009 Dec 3;166(1-2):27-31. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.08.006. Epub 2009 Aug 8. PMID: 19720466.
6. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and treatment of leishmaniasis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). Am J Trop Med Hyg. 2017;96(1):24–45. One of the primary guidelines about leishmaniasis.
7. Aronson NE, Joya CA. Cutaneous leishmaniasis: updates in diagnosis and management. Infect Dis Clin North Am. 2019;33(1):101-132 Curr Trop Med Rep (2021) 8:121–132 17. This article explains some of the more recent developments in leishmaniasis diagnosis and treatment.
8. Bennett, C.L., Misslitz, A., Colledge, L., Aebischer, T. and Blackburn, C.C. (2001), Silent infection of bone marrow-derived dendritic cells by *Leishmania mexicana* amastigotes. Eur. J. Immunol., 31: 876-883. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200103\)31:3<876::AID-IMMU876>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200103)31:3<876::AID-IMMU876>3.0.CO;2-I)
9. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. Clin Infect Dis. 1997;24(4):684–703.
10. Bern C, Amann J, Haque R, Chowdhury R, Ali M, Kurkjian KM, et al. Loss of leishmanin skin test antigen sensitivity and potency in a longitudinal study of visceral leishmaniasis in Bangladesh. Am J Trop Med Hyg. 2006;75(4):744–8.
11. Bettini S., Gramiccia M., Gradoni L., Atzeni M. C., 1986. Leishmaniasis in Sardinia: II. Natural infection of *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, by *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, in the province of Cagliari. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 80, 458-459.
12. Boelaert M, Sundar S. 47- Leishmaniasis. In: Farrar J, Hotez PJ, Junghanss T, Kang G, Lalloo D, White NJ, editors. Manson's Tropical Infectious Diseases (Twenty-third Edition).

London: W.B. Saunders; 2014. p. 631-51.e4. Cañavate C, Herrero M, Nieto J, Cruz I, Chicharro C, Aparicio P, et al. Evaluation of two rK39 dipstick tests, direct agglutination test, and indirect fluorescent antibody test for diagnosis of visceral leishmaniasis in a new epidemic site in highland Ethiopia. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(1):102–6.

13. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet.* 2018;392(10151):951–70. A concise overview of the major aspects of caring for persons with leishmaniasis.

14. Cardoso, L.; Schallig, H.; Persichetti, M.F.; Pennisi, M.G. New Epidemiological Aspects of Animal Leishmaniosis in Europe: The Role of Vertebrate Hosts Other Than Dogs. *Pathogens* 2021, 10, 307. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030307>

15. CDC. Epidemiology and risk factors. [Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/epi.html>].

16. CDC. Leishmaniasis: Biology. [Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>].

17. CDC. American Trypanosomiasis [Available from: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>].

18. Chappuis F, Rijal S, Soto A, Menten J, Boelaert M. Ameta-analysis of the diagnostic performance of the direct agglutination test and rK39 dipstick for visceral leishmaniasis. *Bmj.* 2006;333(7571):723.

19. Davidson R, Croft S. Visceral leishmaniasis in Africa. *Afr Health.* 1992;14(5):18–9.

20. Dvorak V, Kasap OE, Ivovic V, Mikov O, Stefanovska J, Martinkovic F, Omeragic J, Pajovic I, Baymak D, Oguz G, Hlavackova K, Gresova M, Gunay F, Vaselek S, Ayhan N, Lestinova T, Cvetkovikj A, Soldo DK, Katerinova I, Tchakarova S, Yilmaz A, Karaoglu B, Iranzo JR, Kadriaj P, Velo E, Ozbel Y, Petric D, Volf P, Alten B. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in eight Balkan countries: historical review and region-wide entomological survey. *Parasit Vectors.* 2020 Nov 11;13(1):573. doi: 10.1186/s13071-020-04448-w. PMID: 33176888; PMCID: PMC7661266.

21. Imani M, Dehkharghani AD, Ghelman M, Mohammadloo M. Molecular technique for detection of *Leishmania infantum* isolates in Iran. *Trop Parasitol.* 2014 Jan;4(1):35-7. doi: 10.4103/2229-5070.129160. PMID: 24754025; PMCID: PMC3992800.

22. Faye B, Bañuls AL, Bucheton B, Dione MM, Bassanganam O, Hide M, et al. Canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Senegal: risk of emergence in humans? *Microbes Infect.* 2010;12(14-15):1219–25.

23. Franco F A.L., F Morillas-Márquez, S D. Barón, Ml Morales-Yuste, R Gálvez, Vi Díaz, Bernard Pesson, C Alves-Pires, J Depaquit, R Molina, M. Odette Afonso, M Gállego, S Guernaoui, A Bounamous, J Martín-Sánchez. Genetic structure of *Phlebotomus* (Larroussius) ariasi populations, the vector of *Leishmania infantum* in the western Mediterranean. *Epidemiological implications*, *International Journal for Parasitology*, 40, 11, 2010, 1335-1346, ISSN 0020-7519.

24. Gabriel ÁM, Galué-Parra A, Pereira WLA, Pedersen KW, da Silva EO. *Leishmania* 360: Guidelines for Exosomal Research. *Microorganisms.* 2021 Oct 2;9(10):2081. doi: 10.3390/microorganisms9102081. PMID: 34683402; PMCID: PMC8537887.

25. González C, Wang O, Strutz SE, González-Salazar C, SánchezCordero V, Sarkar S. Climate change and risk of leishmaniasis in north america: predictions from ecological niche models of vector and reservoir species. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(1):e585.

26. Guan LR, Xu YX, Li BS, Dong J. The role of *Phlebotomus alexandri* Sinton, 1928 in the transmission of kala-azar. *Bull World Health Organ.* 1986;64(1):107-12. PMID: 3488133; PMCID: PMC2490915.

27. Harizanov R, Rainova I, Tzvetkova N, et al. Geographical Distribution and Epidemiological Characteristics of Visceral Leishmaniasis in Bulgaria, 1988 to 2012. *Eurosurveillance* 2013;18(29):20531; doi: 10.2807/1560-7917.ES2013.18.28 .20531

28. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet.* 1999;354(9185):1191–9.

29. Marsden PD. Mucosal leishmaniasis (“espundia” Escamel, 1911). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1986;80(6):859–76.

30. Mann S, Phupitakphol T, Davis B, Newman S, Suarez JA, HenaoMartínez A, et al. Case Report: Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania* (Viannia) *panamensis* in two travelers successfully treated with miltefosine. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;103(3): 1081–4.

31. McIlwee BE, Weis SE, Hosler GA. Incidence of endemic human cutaneous leishmaniasis in the United States. *JAMA Dermatology*. 2018;154(9):1032–9. 7.
32. Mondal D, Bern C, Ghosh D, Rashid M, Molina R, Chowdhury R, et al. Quantifying the infectiousness of post-kala-azar dermal leishmaniasis toward sand flies. *Clin Infect Dis*. 2019;69(2):251–8.
33. Organization PAHO. Manual of procedures for leishmaniasis surveillance and control in the Americas 2019. [Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51838>. This article gives a thorough explanation of the clinical symptoms, diagnosis, and treatment of leishmaniasis.
34. Walton BC, Chinel LV, Eguia Y, Eguia O. Onset of espundia after many years of occult infection with *Leishmania braziliensis*. *Am J Trop Med Hyg*. 1973;22(6):696–8.
35. Seaman J, Mercer AJ, Sondorp HE, Herwaldt BL. Epidemic visceral leishmaniasis in southern Sudan: treatment of severely debilitated patients under wartime conditions and with limited resources. *Ann Intern Med*. 1996;124(7):664–72.
36. Sundar S, Reed SG, Singh VP, Kumar PC, Murray HW. Rapid accurate field diagnosis of Indian visceral leishmaniasis. *Lancet*. 1998;351(9102):563–5.
37. Silverman JM and NE Reiner. *Leishmania* exosomes deliver preemptive strikes to create an environment permissive for early infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 1, 2012.
38. Gradoni, L., Gramiccia, M. 2008. Leishmaniosis. In In: OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammal, birds and bees), Chapter 2.1.8.
39. Millan, J., Zanet, S., Gomis, M., Trisciuglio, A., Negre, N., Ferroglio, E., 2011. [An investigation into alternative reservoirs of canine leishmaniasis on the endemic island of Mallorca \(Spain\)](#). *Transbound. Emerg. Dis* 58, 352-357. doi: 10.1111/j.1865-1682.2011.01212.x
40. Mirzaei, A., Rouhani, S., Kazerooni, P., Farahmand, M., Parvizi, P., 2013. [Molecular detection and conventional identification of *Leishmania* species in reservoir hosts of zoonotic cutaneous leishmaniasis in fars province, South of iran](#). *Iran J. Parasitol* 8, 280-288.
41. Moraleda-Berral, P., Gálvez, R., Martínez-Nevado, E. *et al*. First clinical cases of leishmaniosis in meerkats (*Suricata suricatta*) housed in wildlife parks in Madrid, Spain. *Parasites Vectors* 18, 31 (2025). <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06647-1>
42. Moreno I., Alvarez, J., Garcia, N., de la Fuente, S., Martinez, I., Marino, E., Torano, A., Goyache, J., Vilas, F., Dominguez, L., Dominguez, M., 2014. [Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test](#). *Vet. Parasitol* 199, 264-267. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.10.010
43. Moncada-Diaz, M.J.; Rodríguez-Almonacid, C.C.; Quiceno-Giraldo, E.; Khuong, F.T.H.; Muskus, C.; Karamysheva, Z.N. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Leishmania* spp. *Pathogens* 2024, 13, 835. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100835>
44. Munoz-Madrid, R., Belinchon-Lorenzo, S., Iniesta, V., Fernandez-Cotrino, J., Parejo, J.C., Serrano, F.J., Monroy, I., Baz, V., Gomez-Luque, A., Gomez-Nieto, L.C., 2013. [First detection of *Leishmania infantum* kinetoplast DNA in hair of wild mammals: Application of qPCR method to determine potential parasite reservoirs](#). *Acta Trop*. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.08.009
45. Oguz G, Bilgic HA, Karaaslan C, Mergen H, Kasap OE, Alten B. Differential expression of *Phlebotomus tobbi* Adler, Theodor & Lourie, 1930 (Diptera: Phlebotomidae) genes under different environmental conditions. *Acta Trop*. 2023 Mar;239:106808. doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106808. Epub 2022 Dec 25. PMID: 36577475.
46. Schorey, J.S.; Cheng, Y.; Singh, P.P.; Smith, V.L. Exosomes and other extracellular vesicles in host–pathogen interactions. *EMBO Rep*. 2015, 16, 24–43
47. Sobrino, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millan, J., Revilla, M., Arnal, M.C., Trisciuglio, A., Gortazar, C., 2008. [Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain](#). *Vet Parasitol* 155, 198-203
48. Stanley J. Naides, 390 - Arboviruses Causing Fever and Rash Syndromes, Editor(s): Lee Goldman, Andrew I. Schafer, Goldman's Cecil Medicine (Twenty Fourth Edition), W.B. Saunders, 2012, 2156-2161, ISBN 9781437716047, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1604-7.00390-0>.

49. Stoimenov GM, Tchakarova S. Detection of *Leishmania infantum* Antibodies in Stray Dogs from Nonendemic Areas in Bulgaria. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2024 Jul;24(7):424-427. doi: 10.1089/vbz.2023.0062. Epub 2024 Apr 15. PMID: 38621148.
50. Stoimenov G., & Tchakarova S. Clinical manifestations and diagnostic approaches in cases of canine leishmaniasis in Bulgaria. *Veterinaria Italiana*, (2024). 60(2). <https://doi.org/10.12834/VetIt.3128.23106.2>
- Suárez, B., Isidoro, B., Santos, S., Sierra, M.J., Molina, R., Astray, J., Amela, C. 2012. [Review of the current situation and the risk factors of *Leishmania infantum* in Spain](#). In *Revista Española de Salud Pública*, pp. 555-564.
51. Toplu N., A. Aydoğan, T.C. Oguzoglu, Visceral Leishmaniosis and Parapoxvirus Infection in a Mediterranean Monk Seal (*Monachus monachus*), *Journal of Comparative Pathology*, Volume 136, Issue 4, 2007, 283-287, ISSN 0021-9975, <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.02.005>.
52. Tsachev I, Kyriazis ID, Boustini S, et al. First report of canine visceral leishmaniasis in Bulgaria. *Turk J Vet Anim Sci* 2010; 34(5):465–469; doi: 10.3906/vet-0905-16
53. Tsachev I, Papadogiannakis EI, Kontos V, et al. Seroepidemiology of *Leishmania* among healthy dogs in Bulgaria. *Turk J Vet Anim Sci* 2007;31(1):73–74.
54. Uwishema O, Sapkota S, Wellington J, Onyeaka CVP, Onyeaka H. Leishmaniasis control in the light of the COVID-19 pandemic in Africa. *Ann Med Surg (Lond)*. 2022 Aug;80:104263. doi: 10.1016/j.amsu.2022.104263. Epub 2022 Jul 31. PMID: 35936565; PMCID: PMC9339101.
55. Vutova, K.; Yancheva-Petrova, N.; Tchipeva, R.; Velez, V. Autochthonous and Imported Visceral Leishmaniasis in Bulgaria—Clinical Experience and Treatment of Patients. *Pathogens* 2024, 13, 205. <https://doi.org/10.3390/pathogens13030205>
56. WHO. Report on the Consultative Meeting on Leishmania/HIV Co-Infection Rome 6–7 September 1994 1995 [Available from: https://www.who.int/leishmaniasis/resources/who_leish_95.35/en/].
57. WHO. Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis data by country [Available from: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHCEND?lang=en>].
58. WHO. Guideline for Diagnosis, treatment and prevention of visceral leishmaniasis in South Sudan [Available from: https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Guidelines_for_diagnosis_treatment_and_prevention_of_VL_in_South_Sudan.pdf].
59. WHO. Leishmaniasis [Available from: <https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/leishmaniasis>].
60. WHO. Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010. World Health Organization. 2010 [Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>].
61. Younis BM, Osman M, Khalil EAG, Santoro F, Furini S, Wiggins R, Keding A, Carraro M, Musa AEA, Abdarahaman MAA, Mandefield L, Bland M, Aebischer T, Gabe R, Layton AM, Lacey CJN, Kaye PM, Musa AM. Safety and immunogenicity of ChAd63-KH vaccine in post-kala-azar dermal leishmaniasis patients in Sudan. *Mol Ther*. 2021 Jul 7;29(7):2366-2377. doi: 10.1016/j.ymthe.2021.03.020. Epub 2021 Mar 27. PMID: 33781913; PMCID: PMC8261165.

Изготвил:

доц. д-р Габриела Гужгулова

18.08.2025 г.