



รังโรคลีชมาเนียในสัตว์

Leishmania animal reservoir

ธีระยศ กอบอาษา

สำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง

Theerayot Kobasa

Bureau of Vector Borne Diseases

Leishmaniasis สามารถจัดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ antroponotic leishmaniasis เป็นกลุ่มที่มีคนแหล่งรังโรค และ zoonotic leishmaniasis เป็นกลุ่มที่มีคน สัตว์ป่าและสัตว์เลี้ยงเป็นแหล่งรังโรค โดยทั่วไปสัตว์ที่ติดเชื่ออาจจะมีอาการแสดงหรือไม่แสดงป่วย สัตว์เป็นรังโรคของเชื้อ *Leishmania* เช่น Edentata (e.g., armadillo, sloth), Carnivora (e.g., dog, cat), Hyracoilidea (e.g., hyraxes), Rodentia (e.g., rats, gerbils), Primates (e.g., human, monkey), Marsupialia (e.g., opossum) และ Perissodactyla (e.g., horses) (Ashford, 1996; Saliba and Oumeish, 1999; Gramiccia and Gradoni, 2005) Zoonotic leishmaniasis มีสาเหตุเกิดจากเชื้อหลายชนิด แต่ละชนิดจะมี susceptibility host และอาการแสดงอาจต่างกัน เช่น *L. infantum* ที่ติดเชื่อในสุนัข เชื้อสามารถมีชีวิตและเพิ่มจำนวนได้ดีในอวัยวะภายในและผิวหนังของสุนัข ซึ่งต่างกับการติดเชื่อในคนที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพเฉพาะที่อวัยวะภายใน ส่วนเชื้อ *L. guyanensis* ในตัวนิ่ม (sloth) ก่อให้เกิดพยาธิสภาพอวัยวะภายในซึ่งต่างกับการติดเชื่อในคนที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพที่ผิวหนัง (cutaneous leishmaniasis)

ในระบบนิเวศวิทยาของพื้นที่แหล่งระบาดของ leishmaniasis ต้องประกอบด้วย sandfly (ชนิดที่สามารถเป็น vector) และสิ่งมีชีวิตที่มีกระดูกสัน

หลังที่เชื่อสามารถเข้าไปมีชีวิตอยู่ได้ (host) ส่วนสิ่งมีชีวิตที่เชื่อสามารถอาศัยอยู่โดยไม่ก่อให้เกิดพยาธิของโรคเรียกสิ่งมีชีวิตนี้ว่า รังโรค (reservoir) สิ่งมีชีวิตที่สามารถเป็นรังโรค leishmaniasis ที่ตีพิมพ์มี:

1. จำนวนมากพอสมควร อาศัยอยู่ในรัศมีการบินหากินของ sandfly

2. ชีวนิสัยหรือกิจกรรมที่ต้องใช้พื้นที่ร่วมกันหรือพื้นที่ใกล้กับ sandfly เพื่อเพิ่มโอกาสการกัดกินเลือดของ sandfly (intense host-sand flies contact) และการแพร่โรคสู่สัตว์ตัวอื่น

3. เชื้อสามารถมีชีวิตและเจริญได้ดีเป็นเวลานาน และไม่ควรก่อให้เกิดพยาธิสภาพในสัตว์ที่เป็นรังโรค เพื่อให้เพิ่มระยะเวลาการมีชีวิตและการแพร่โรคที่ยาวนาน

4. parasite ต้องสามารถอาศัยอยู่ในเลือดและที่ผิวหนังได้ดีและมีจำนวนมากเพียงพอแก่ sandfly มารับไปแพร่เชื้อ

5. host ที่เหมาะสมตามธรรมชาติ (natural (primary) reservoir) ของ *Leishmania* spp. ยังมีอยู่จำนวนมากที่ยังไม่รู้และรอการพิสูจน์ จากข้อมูลการพบผู้ป่วยในช่วงแรก การป่วยมักเกิดขึ้นในกลุ่มคนที่ทำงานเกี่ยวข้องกับป่า ดังนั้นผู้ป่วยน่าจะได้รับเชื้อจากในป่า จึงเกิดข้อสันนิษฐานที่ว่าสัตว์ป่าจะเป็น natural reservoir มาก่อน และต่อมามนุษย์และสัตว์เลี้ยงอื่นๆ เป็น accidental host⁽¹⁾ อย่างไรก็ตาม

มี *Leishmania* บางชนิดที่เป็น zoonotic disease แม้แต่ *Leishmania donovani* species complex ในกลุ่มจำแนกออกเป็น 3 ชนิด คือ *L. chagasi*, *L. donovani* และ *L. Infantum* แต่ก็พบว่าเชื้อ *L. donovani* ในประเทศอินเดีย ปากีสถาน และเนปาลพบเฉพาะในคน ยังไม่สัตว์ที่เป็นรังโรค สำหรับเชื้อ *L. infantum* ในแถบเมดิเตอร์เรเนียน และ *L. chagasi* ในแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้มีสุนัขและสุนัขป่าเป็นรังโรค ส่วน viscerotropic *L. tropica* ที่พบในประเทศแถบอัฟริกามีสัตว์ฟันแทะเป็นรังโรค โดยรังโรคในสัตว์ถูกสำรวจสรุปรวบรวม รายละเอียดดัง ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงชนิดเชื้อ *Leishmania* จำแนกตามภูมิศาสตร์ (ดัดแปลงมาจาก Herwaldt B. Lancet 1999)

Cutaneous leishmaniasis			
Old World	Country or Region	Vector	Reservoir
<i>L. aethiopica</i>	Ethiopia and Kenya	<i>Phlebotomus longipes</i> , <i>Phlebotomus pedifer</i>	hyrax
<i>L. major</i>	Africa and Asia	<i>Phlebotomus papatasi</i> , <i>Phlebotomus buboscqi</i>	gerbils, rodents
<i>L. tropica</i>	Europe, Asia and North Africa	<i>Phlebotomus sergenti</i>	humans
<i>L. donovani</i>	North-East India Bangladesh, Burma	<i>Phlebotomus argentipes</i>	humans
<i>L. infantum</i>	Mediterranean basin, Middle East, China, Central Asia	<i>Phlebotomus perniciosus</i> , <i>Phlebotomus ariasi</i>	dog, fox, jackal
New World			
<i>L. mexicana complex</i>	Central and South	<i>Lutzomyia olmeca</i>	forest rodents
<i>L. amazonensis</i>	America		
<i>Viannia Subgenus:</i>			
<i>L. (V.) braziliensis</i>	Tropical forest of South and Central America	<i>Lutzomyia spp.</i> <i>Psychodopygus wellcomei</i>	forest rodents peridomestic animals
<i>L. (V.) guyanensis</i>	Guyana, Surinam, Brazil West Andes of Peru	<i>Lutzomyia umbratilis</i>	sloth (Chleopus), Arboreal anteater (Tamandua)
<i>L. (V.) peruviana</i> <i>L. chagasi</i>	Argentine highlands South America	<i>Lutzomyia spp.</i> <i>Lutzomyia longipalpis</i>	dog, fox, opossum

ประเทศบราซิล มีการศึกษาการเฝ้าระวัง ป้องกันควบคุมโรค visceral leishmaniasis ที่เกิดจาก *L. infantum* พบว่าสุนัขไม่ใช่ reservoir ที่ดีของเชื้อ *Leishmania* spp.⁽²⁾ มีความสอดคล้องกับหลายผลการศึกษาที่ดำเนินการในทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศบราซิล ที่พบว่ากระต่ายขนาดเล็ก น่าจะเป็น Natural host ของเชือนี้ แต่การที่มนุษย์ที่เข้าไปรับเชื้อในป่า หรือสุนัขบางชนิดที่ถูกฝึกสำหรับช่วยล่าสัตว์หรือขับไล่สุนัขจิ้งจอก (fox hound) ไปรับเชื้อจากในป่ากลับเข้ามาแพร่โรคในชุมชน ประกอบกับสุนัขเป็นสัตว์เลี้ยงยอดนิยมและมีจำนวนมาก ปราศจากการป้องกันการกัดของแมลงพาหะ รวมถึงจำนวนที่เพิ่มขึ้นมาของสุนัขจรจัด ทำให้จำนวนสุนัขติดเชื้อเพิ่มจำนวนมากขึ้นมาเป็นลำดับ สุนัขจึงเป็นสัตว์รังโรคที่สำคัญเป็นส่วนหนึ่งที่ควรเฝ้าระวังควบคุมโรค เพราะมีบทบาทชัดเจนในการแพร่กระจายโรคในประเทศบราซิล แต่เดิมประเทศบราซิล มีการระบาดของ visceral leishmaniasis พบเฉพาะในพื้นที่เขตชนบท และเขตกึ่งเมืองกึ่งชนบท ในกว่า 10 เมืองทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจากข้อมูลตั้งแต่ปี ค.ศ.1980-2005 ประเทศบราซิล มีการรายงานผู้ป่วย visceral leishmaniasis ลงทะเบียนจำนวน 60,954 ราย และมีการรายงานพบผู้ป่วยรายใหม่มากกว่า 1,000 ราย ในทุกปี การระบาดของโรคในพื้นที่เขตเมืองเริ่มปรากฏขึ้นรายแรกในปี 1982 จากการรายงานผู้ป่วยที่ติดเชือในเขตเมือง Soa Luis และรายงานสุนัขที่เป็น visceral leishmaniasis ตัวแรกที่เมืองเดียวกันในปี 1986 และที่เมือง Soa Luis มีการรวบรวมผลสำรวจตั้งแต่ปี 2000-2005 มีรายงานผู้ป่วยรายใหม่จำนวน 329 ราย ผู้ป่วยเสียชีวิต 13 ราย พบสุนัขที่ sero-surveillance positive จำนวน 7,682 ตัว เพิ่มขึ้นร้อยละ 25 นอกจากนี้พบว่ามัสตาร์ดอื่นที่ให้

ผลเลือด positive เช่น ไก่ หมู และม้า⁽⁴⁾ ซึ่งมีหลายประเทศที่ประสบปัญหานี้ เช่น

อเมริกาใต้ เมื่อปี ค.ศ. 2000 โดยมีการรายงาน fox hound 4 ตัว เสียชีวิตด้วย zoonotic visceral leishmaniasis (ZVL) โดยอาการป่วยของสุนัขมีส่วนคล้ายในคน อาการแสดงที่พบคือน้ำหนักลด ไม่ร่าเริง ซึมูกซ์ตามาก ต่อมน์น้ำเหลือง ตับม้ามโต ต่อมาเกิดการระบาดของโรคนี้ใน fox hound ในหลายรัฐทางภาคตะวันออกของสหรัฐอเมริกา และจากการสุ่มสำรวจในหลายพื้นที่ที่มีรายงานการพบการป่วยและสำรวจทางกีฏวิทยา แต่ตรวจไม่พบเชื้อ *Leishmania* ใน suspected vector (*Lutzomyia shannoni*) แต่จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อ *L. infantum* สามารถเจริญได้ดีใน *L. shannoni*⁽³⁾

ทวีปเอเชีย พบการระบาดในแถบเอเชียใต้ ปัญหาเรื่องรังโรคในยังไม่ชัดเจน แต่พบว่าปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรคมีความสัมพันธ์กิจกรรมปศุสัตว์ การเลี้ยงวัว และควาย การนำเอามูลสัตว์มาเป็นส่วนผสมทำผนังบ้าน และการสุขาภิบาลที่ไม่ได้มาตรฐาน โดยเฉพาะการเลี้ยงสัตว์ในบริเวณบ้าน สัตว์จะถ่ายบริเวณบ้านมูลของสัตว์เป็นอาหารของตัวอ่อนของแมลงพาหะ

พื้นที่ระบาดของ Old world และ New world leishmaniasis ตรวจพบสุนัขจำนวนมากที่ติดเชื้อ *Leishmania* แต่ยังไม่มีการรายงานพบการติดเชื้อในคน และมากกว่าร้อยละ 50 ของสุนัขที่ติดเชื้อไม่แสดงอาการป่วย ซึ่งระยะเวลาตั้งรับเชื้อจนปรากฏอาการป่วย (pre-patent period) ในสุนัขอาจใช้เวลา มากกว่า 1 ปี หรือไม่ปรากฏอาการตลอดชีวิต สัตว์ที่ติดเชื้อชนิด cutaneous leishmaniasis ผลอาจหายเองได้ (self-limiting)⁽⁵⁾ โดยพบว่าอัตราการติดเชื้อของ sandfly ที่กินเลือดสุนัขที่ไม่แสดงอาการ

อยู่ที่ร้อยละ 29 และจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 80 ในกลุ่ม sandfly กินเลือดสุนัขที่มีอาการป่วยรุนแรง⁽⁶⁾ ที่น่าสนใจคือการแพร่กระจายโรคของสุนัขในหลายพื้นที่เกิดขึ้นทั้งในพื้นที่นั้นไม่มี sandfly เช่น ในปี 2009 มีการดำเนินการสำรวจ fox hound ที่อเมริกาเหนือในพื้นที่ที่ปลอดจาก sandfly พบว่า ZVL prevalence rate ในสุนัขมากกว่าร้อยละ 20⁽⁷⁾ ดังนั้นการติดเชื้อในสัตว์นั้นอาจเกิดจากสัตว์สู่สัตว์โดยตรง ซึ่งต่างจากเดิมแนวคิดว่า การแพร่โรคต้องมี sandfly เป็นพาหะนำโรคเท่านั้น มีผลการศึกษานับสนุน:

1. การติดต่อผ่านทางรก หรือแม่สู่ลูก (transplacenta transmission) มีรายงานการศึกษาพบว่า แม่สุนัขที่ติดเชื้อ *L. infantum* คลอดลูกจำนวน 12 ตัว ลูกสุนัขจำนวน 8 ตัว (ร้อยละ 66) เสียชีวิตภายใน 24 ชม. ตรวจพบเชื้อ *L. infantum* และผลการชันสูตรซากลูกสุนัขพบการอักเสบของไขกระดูก ม้าม ตับ ที่คล้ายกับอาการ disseminated visceral leishmaniasis ในคน ส่วนลูกสุนัขที่เหลือทั้งหมดตายภายใน 12 สัปดาห์หลังคลอด⁽³⁾ ซึ่งสอดคล้องการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า ร้อยละ 5 ของลูกหนูการติดเชื้อ *L. infantum* ที่เกิดจากแม่หนู (BABL/c mice) ที่ติดเชื้อนี้โดยวิธี intravenous inoculated ด้วย *L. infantum* promastigote⁽⁸⁾

2. การติดต่อทางเพศสัมพันธ์ มีความเป็นไปได้ในการแพร่โรคผ่านทางเพศสัมพันธ์ จากการตั้งข้อสังเกตมาตั้งแต่ปี 1960 ที่ประเทศอังกฤษ จากรายงานสามีที่เป็น visceral leishmaniasis แพร่โรคสู่ภรรยา ทั้งที่ในพื้นที่อยู่อาศัยนั้นปลอดจากแมลงพาหะ (completely free of the insect vector)⁽⁹⁾ รวมถึงรายงานการพบ amastigotes ที่เข็ม aspiration of the testis ในเด็กชายมีอาการ severe lymphoblastic leukemia⁽¹⁰⁾ ส่วนในสัตว์นั้น มีรายงานการพบ *Leishmania* DNA ในน้ำอสุจิของสุนัขที่เป็น visceral

leishmaniasis ในธรรมชาติ และในสุนัข visceral leishmaniasis symptomatic พบว่ามีการอักเสบของอัณฑะ (testis) หลอดเก็บน้ำอสุจิ (epididymis) และ glands penis มากกว่าสุนัขในกลุ่ม asymptomatic และ control อย่างมีนัยสำคัญ และจำนวนความถี่ที่เพิ่มขึ้นของการอักเสบมีความสัมพันธ์แปรผันตรงกับจำนวน amastigote ที่พบจาก testis aspiration⁽⁹⁾ รวมทั้งการศึกษาในห้องทดลองตรวจพบ DNA ของเชื้อ *L. infantum* จากเนื้อเยื่อที่ม้ามของหนูตัวผู้ที่ผสมพันธุ์แม่หนูที่ติดเชื้อ *L. infantum*⁽⁸⁾ ดังนั้นจึง ข้อสรุปของการแพร่เชื้อผ่านทางเพศสัมพันธ์ในสัตว์รังโรค มีความเป็นไปได้ แต่ในคนยังเป็นเพียงข้อสงสัย

3. ความเป็นไปได้ของการแพร่เชื้อผ่านทางเห็บ (*Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae)) มีรายงานการศึกษาที่เก็บตัวอย่างเห็บจากสุนัขที่เป็น visceral leishmaniasis เชื้อชนิด *L. chagasi* ในประเทศบราซิลเพื่อมาตรวจหา DNA ของเชื้อ พบเห็บร้อยละ 15.4 *L. chagasi* DNA positive⁽¹²⁾ และตรวจจากเห็บที่เก็บจากสุนัขที่ติดเชื้อ *L. infantum* ที่ประเทศอิตาลีตรวจพบ DNA ของเชื้อในเห็บร้อยละ 12.3⁽¹³⁾ อีกทั้งไม่นานมานี้มีการศึกษาตามวงจรชีวิตของเห็บที่กินเลือดสุนัขที่ติดเชื้อ *L. infantum* สามารถตรวจพบ DNA ของเชื้อชนิด *L. infantum* จากตัวและไข่ของเห็บ⁽¹⁴⁾ จากผลการศึกษา มีรายการการพบ DNA เท่านั้น การที่จะระบุว่าเชื้อ *Leishmania* สามารถแพร่เชื้อโดยเห็บหรือจากรุ่นสู่รุ่นผ่านทาง การฝังตัวของไข่ (transovarial transmission) จำเป็นต้องมีศึกษาเกี่ยวข้องกับข้อมูลการพบตัวเชื้อ ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อ การเพิ่มจำนวนของเชื้อในเห็บหรือไข่เห็บ รวมทั้งศักยภาพในการแพร่เชื้อเพิ่มเติม

การศึกษาระบาดวิทยาของรังโรคในสุนัข จำเป็นต้องใช้การตรวจทางซีรัมวิทยา เนื่องจากกว่า

ร้อยละ 50 ของสุนัขที่ติดเชื้อมิแสดงอาการป่วย เมื่อพบสุนัขที่ป่วย ต้องคัดแยกสัตว์ป่วย จากนั้นตรวจยืนยันผลซ้ำ (ระหว่างรอผลการตรวจต้องป้องกันไม่ให้สัตว์ถูกรับฟอยทรายกัดซ้ำอีก) เดิมเคยมีการทดลองรักษา แต่ปัจจุบันพบว่า สัตว์ที่ติดเชืชนิด cutaneous leishmaniasis จะหายเองได้ (self-limiting) ส่วนการติดเชืชนิด visceral และ mucocutaneous leishmaniasis ไม่แนะนำให้รักษา เพราะสัตว์ป่วยอาจเป็นสัตว์รังโรคที่จะแพร่ไปสู่คนได้ จึงแนะนำให้ทำลายสัตว์ที่ติดเชื้อ

การควบคุมรังโรคในสัตว์

(เป็นการนำตัวอย่างจากประเทศบราซิลใช้เป็นกรณีศึกษา)⁽¹⁵⁾

1. ในประเทศบราซิล พบว่าสุนัขและแมวเป็นรังโรคในสัตว์ที่สำคัญ จึงได้ดำเนินการใช้มาตรการให้วัคซีนแบบบูรณาการกับสุนัข ควบคู่กับมาตรการควบคุมโรคในคน แต่ในแมวยังไม่มีวัคซีนที่เหมาะสม วัคซีนสำหรับสุนัขที่ใช้คือ FML vaccine (Leishmune) ผลิตจากการนำเอา *L. donovani* antigen มา recombinant กับ saponin ให้ผลในการยับยั้งการแพร่เชื้อแต่ไม่ให้ผลทางการรักษา⁽¹⁶⁾ วัคซีนนี้ได้รับการรับรองจากกระทรวงเกษตร แต่กระทรวงสาธารณสุขยังไม่แนะนำให้ใช้ นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาวัคซีนที่ยังอยู่ในขั้นทดลองอีกหลายชนิดเช่น

- วัคซีนที่ทำจากเชื้อระยะ promastegote ที่ตายแล้วแล้วผสมหรือไม่ผสมกับ BCG ทำการศึกษาในประเทศบราซิล

- วัคซีนที่ทำจากเชื้อระยะ promastegote ของเชื้อ *L. major* ที่ตายแล้วแล้วผสมกับ BCG ทำการศึกษาในประเทศชูดาน

- Recombinant surface antigen gp36, aglycoprotein with protease activity

- Lipophosphoglycan, surface glycoconjugate

- 46 kD promastigote antigen derived จากเชื้อ *L. amazonensis*

- *Leishmania*-activate C kinase (LACK)

- วัคซีนที่ทำจากเชื้อที่ตายแล้วผสมหรือไม่ผสมกับ BCG ทำการศึกษาในประเทศชูดานในการควบคุม VL เป็นต้น

1. กำจัดสุนัขที่ seropositive ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงการแพร่เชื้อระดับสูงและระดับกลาง

2. รณรงค์ใช้ปลอกคอสุนัขและแมว ที่ชุบด้วย deltamethrin 4%

3. ทำมุ้งลวดกับกรงเลี้ยงสุนัข

ส่วนในประเทศไทย มีการรายงานพบผู้ป่วย leishmaniasis จำนวน 67 ราย ในจำนวนนี้เป็นผู้ป่วย visceral leishmaniasis จำนวน 15 ราย เป็นการติดเชื้อมาในประเทศจำนวน 6 ราย บางรายเชื้อที่พบเป็น *L. infantum* ที่เป็น zoonotic disease ได้มีการสำรวจรังโรคในสัตว์ 5 ครั้ง ที่จังหวัดสตูล น่าน พังงา นครศรีธรรมราช และเชียงราย เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการสอบสวนผู้ป่วยที่เป็น visceral leishmaniasis โดยทำการเจาะเลือดสัตว์ (สุนัข วัหุ และแมว) ในรัศมี 200 เมตรรอบบ้านผู้ป่วย เพื่อตรวจหา *Leishmania* spp. specific antibody ด้วยวิธี Direct Agglutination test ให้ผลตรวจบวกในวัหุ และแมว บางส่วน และได้นำมาตรวจทางอนุชีวโมเลกุลต่อให้ผลเป็น *Trypanosome* sp. และการพบที่เชื้อ *Leishmania* สายพันธุ์ใหม่ในประเทศไทย คือ *Leishmania siamensis* ซึ่งยังไม่มีข้อมูลชัดเจนของห่วงโซ่การแพร่โรคของเชื้อนี้ ดังนั้นควรควรทำความเข้าใจเกี่ยวกับสถานการณ์รังโรคในสัตว์นี้ยังมีความจำเป็น เพื่อนำมาใช้ประกอบการวางแผนควบคุมโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Grimadi G. and Tesh RB. Leishmaniasis in the new world: current concepts and implications for future research. Clin Microbiol Rev 1993; 6, 230-250.
2. Castro EA, Thomaz-Soccol V., Augur., et al. *Leishmania (Viannia) brailiensis*: epidemiology of canine cutaneous leishmaniasis in the state of Panara (Brazil). Exp. Parasitol 2007; 117, 13-21.
3. Paolo MB., Gibson-Corley KN., Kyle M., et al. Transplacenta transmission of *Leishmania infantum* as a means for continue disease incidence in North America. PLOS Neglected Trop Dis 2011; 5(4), 1-6.)
4. Soraria AD., Fabiana LS., Alcina V. Animal reservoirs for visceral leishmaniasis in densely populated urban areas. J Infect Developing countries 2008; 2(1), 24-33.)
5. Moreno J. and Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experiment model. Trend Parasitol 2002; 18, 399-405.
6. Quinnell RJ. And Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology; 2009, 1-20.
7. Travi BL., Ferro C., Cadena H., et al. Canine visceral leishmaniasis; dog infectivity to sand flies from non-endemic areas. Res Vet Sci 2002; 72, 83-86.
8. Alex C., Rosypal S., David S., et al. Non-sand fly transmission of North American isolated of *Leishmania infantum* in experimentally infected BALB/C mice. J Parasitol 2005; 91(5), 1113-1115.
9. Symmers WSC. Leishmaniasis acquired by contagion a case of marital infection: in Britain. Lancet 1960; 16, 127-132.
10. Kapila K., prakash MB., Mehrota R., etc al. Testicular *leishmania* in boy with acute lymphoblastic leukemia. Acta Cytol 38; 878-897, 1994.
11. Diniz SA., Melo MS., Borges AM., et al. Genital elisions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* spp. In the semen of natural infected dogs. Vet Pathology 2005; 42, 650-658.
12. Maria TZC., Lilian LB., Annelies S., et al. Parrticipation of *Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixididae)* in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. Vet parasitol 2005; 128, 149-155.
13. Dantas-Torres F., Lorusso V., de Paiva-Cavalcanti M., et al. Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. Parasitol Res 2010; 106(4), 857-860.
14. Fillipe DT., Maria SL. And Domenico O. Quantification of *Leishmania infantum* DNA in females, eggs and larvae of *Rhipicephalus sanguineus*. Parasites and Vectors 2011; 4, 56.
15. Guerin PJ., Olliaro P., Sundar S., et al. Visceral leishmaniasis: current status of control diagnosis and treatment, and proposed research and development agenda. Lancet 2002; 2, 594-501.
16. Saraiva EM., de Figueiredo BA., Santos FN. et al. The FML – vaccine (Leishmune) against canine visceral leishmaniasis: a transmission blocking vaccine. Vaccine 2006; 24(13), 2423-2431.