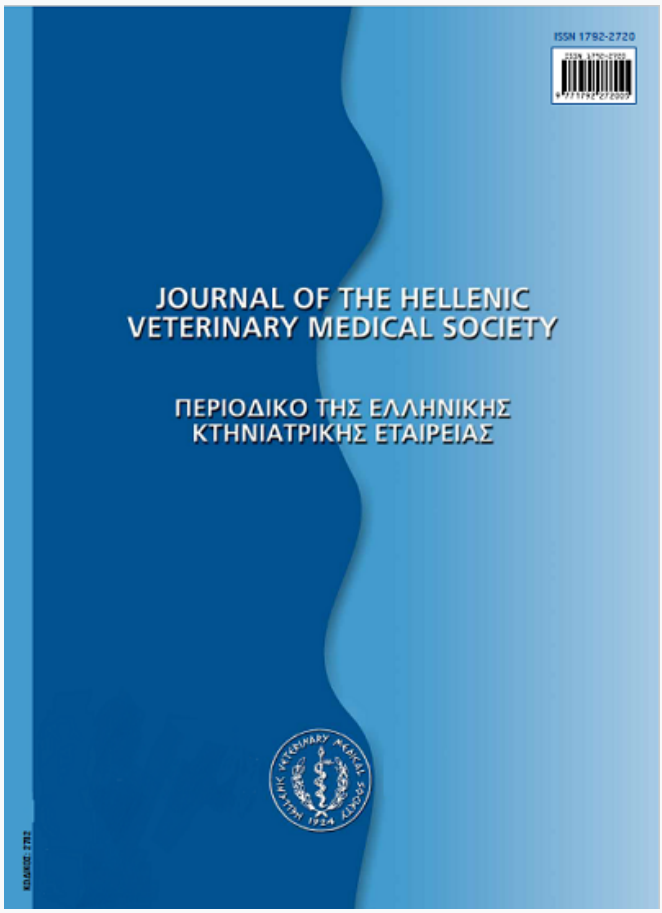
ePublishing
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας

Τόμ. 59, Αρ. 3 (2008)



Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φάρμακα «δεύτερης επιλογής» στη θεραπεία της λεϊσμανίωσης του σκύλου; Το παράδειγμα της αμινοσιδίνης

N. M. SARIDOMICHELAKIS (Μ. Ν. ΣΑΡΙΔΟΜΙΧΕΛΑΚΗΣ), V. L. ATHANASIOU (Λ. ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ), D. KASABALIS (Δ. ΚΑΣΑΜΠΑΛΗΣ)

doi: 10.12681/jhvms.14961

Βιβλιογραφική αναφορά:

SARIDOMICHELAKIS (Μ. Ν. ΣΑΡΙΔΟΜΙΧΕΛΑΚΗΣ) N. M., ATHANASIOU (Λ. ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ) V. L., & KASABALIS (Δ. ΚΑΣΑΜΠΑΛΗΣ) D. (2017). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φάρμακα «δεύτερης επιλογής» στη θεραπεία της λεϊσμανίωσης του σκύλου; Το παράδειγμα της αμινοσιδίνης. *Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, *59*(3), 239–246. https://doi.org/10.12681/jhvms.14961

JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2008, 59(3): 239-246
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2008, 59(3): 239-246

Review article
Ανασκόπηση

Is there any place for "second-line" medication in the treatment of canine leishmaniosis? The aminosidine paradigm.

Saridomichelakis N. M. DVM, PhD, **Athanasiou V. L.** DVM, MSc, PhD, **Kasabalis D.** DVM, PhD student

Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φάρμακα «δεύτερης επιλογής» στη θεραπεία της λεϊσμανίωσης του σκύλου; Το παράδειγμα της αμινοσιδίνης.

Μ. Ν. Σαριδομιχελάκης DVM, PhD, Επίκουρος Καθηγητής Α.Ε.Ι.,
Λ. Αθανασίου DVM, MSc, PhD, Συμβασιούχος Διδάσκουσα Α.Ε.Ι.,
Δ. Κασαμπαλής DVM, Υποψήφιος Διδάκτορας Α.Ε.Ι.

Παθολογική Κλινική Τμήματος Κτηνιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Καρδίτσα

ABSTRACT. Leishmaniosis is one of the most common diseases of dogs in the Mediterranean countries with zoonotic potential. Based on recent publications, the drugs currently in use for the treatment of this disease have been grouped into "first-line" (meglumine antimoniate, allopurinol, combination of the former, amphotericin B) and "second-line" (aminosidine, pentamidine, metronidazole in combination with enrofloxacin or with spiramycin, miltefosine, ketokonazole). For an objective comparison of the usefulness of these antileishmanial medications, various factors, such as route, dose and frequency of administration, clinical efficacy, toxicity, achievement of parasitological cure or change of the immunological response of the patient, and infectiousness of treated dogs to sandflies, should be taken into consideration. Clearly, if all remaining factors are constant, orally administered agents would be preferable, because no hospitalization is needed and local reactions at the injection sites are at best avoided. Dose and frequency of administration should be defined by performing drug pharmacokinetic and pharmacodynamic studies, in order to reduce toxicity, increase efficacy and avoid development of resistant parasite strains. Ideally, clinical efficacy and safety should be assessed in staged clinical trials, starting with toxicological studies, followed by observational trials, and finally by blinded-controlled trials. Unfortunatelly, such rigorous testing has not been performed for many antileishmanial medications applied to the dog. Also, dosing schedules that are considered sub-optimal from a pharmacological standpoint have been employed for some of them, most likely resulting in erroneous conclusions. Aminosidine is perhaps the most typical example, since it has been tested at a wrong dose (5mg/kg B.W.) and frequency of administration (every 12 hours) in all controlled trials so far conducted. Nowadays, it is clear that parasitological cure cannot be achieved in the majority of treated dogs, irrespectively of the therapeutic protocol employed. Furthermore, even if it had been feasible, the total elimination of the parasite would have been meaningless for dogs residing in the endemic areas of the disease. For these reasons, one of the most important ,but largely unexplored goals of antileishmanial treatment is to change the immunological response of the patient, thus rendering previously susceptible dogs resistant to disease and its relapses. Although the infectivity of treated dogs to sandflies is reduced, it is not usually eliminated. From an epidemiological point of view this may be of minor importance, given the high prevalence of the infection among the canine population. However, from a public health perspective, transmission of potentially drug-resistant strains of the parasite is a major consideration. Strategies

Correspondence: Saridomichelakis N. M.
Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, Trikalon Str 224,
GR-431 00, Karditsa, Greece, Tel.: +30 2441 0 66053, Fax: +30 2441 0 66055
E-mail: msarido@vet.uth.gr

Αλληλογραφία: Μ. Ν. Σαριδομιχελάκης
Παθολογική Κλινική Τμήματος Κτηνιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τρικάλων 224,
431 00, Καρδίτσα, Τηλ.: 2441 0 66053, Fax: 2441 0 66055
E-mail: msarido@vet.uth.gr

Submission date: 03.10.2008
Approval date: 03.12.2008

Ημερομηνία υποβολής: 03.10.2008
Ημερομηνία εγκρίσεως: 03.12.2008

to avoid or delay their occurrence include optimal dosing and treatment duration, use of different medications in relapsing cases, combination of drugs with different mode of action and, when possible, preference for medications that are not currently in use for the treatment of human visceral leishmaniasis. Aminosidine, although injectable and contraindicated in dogs with renal failure, offers some advantages, such as the low cost, commercial availability in Greece, once daily administration and satisfactory efficacy and safety when used at the optimal dose. Also, it is not currently employed for the treatment of human disease, at least in the Mediterranean countries. For all these reasons, blinded-controlled trials are urgently needed to definitely prove if aminosidine can be really considered as a "first-line" drug for the treatment of canine leishmaniosis.

Key words: dog, leishmaniosis, treatment, aminosidine

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η λεϊσμανίωση εξακολουθεί να αποτελεί ένα από τα συχνότερα νοσήματα του σκύλου στις μεσογειακές χώρες, ενώ παράλληλα είναι και ζωοανθρωπονόσος. Σύμφωνα με πρόσφατες δημοσιεύσεις, τα αντιλεϊσμανιακά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της μπορούν να χωριστούν σε «πρώτης» (αντιμονιακή μεγλουμίνη, αλλοπουρινόλη, συνδυασμός των δύο παραπάνω, αμφοτερικίνη Β) και «δεύτερης επιλογής» (αμινοσιδίνη, πενταμιδίνη, μετρονιδαζόλη σε συνδυασμό με την ενροφλοξασίνη ή τη σπιραμυκίνη, μιλτεφοσίνη, κετοκοναζόλη). Για την αντικειμενική αξιολόγηση και ταξινόμηση των φαρμάκων αυτών πρέπει να συνυπολογίζονται διάφοροι παράγοντες, όπως είναι η οδός, η δόση, η συχνότητα και η διάρκεια χορήγησης, η κλινική αποτελεσματικότητα, η τοξικότητα, η παρασιτολογική ίαση, η μεταβολή της ανοσολογικής απάντησης του συμπτωματικού σκύλου και η αποτροπή μετάδοσης του πρωτόζωου στους φλεβοτόμους. Όταν δεν διαφέρουν οι υπόλοιπες παράμετροι, η θεραπευτική αντιμετώπιση με φάρμακα που χορηγούνται από το στόμα υπερέχει, επειδή δεν απαιτείται η νοσηλεία του ζώου στην κλινική και αποφεύγονται οι αντιδράσεις στα σημεία των εγχύσεων. Η δόση του κάθε φαρμάκου πρέπει να προσδιορίζεται ύστερα από φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές μελέτες, με στόχο τη μεγιστοποίηση της αποτελεσματικότητας, τον περιορισμό της τοξικότητας και την αποφυγή δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών του πρωτόζωου. Η κλινική αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια καλό είναι να ελέγχονται με σταδιοποιημένες κλινικές μελέτες, ξεκινώντας από τις τοξικολογικές, συνεχίζοντας με απλές μελέτες παρατήρησης και καταλήγοντας σε συγκριτικές μελέτες, στις οποίες οι σκύλοι κατανέμονται τυχαία στις θεραπευτικές ομάδες και οι ερευνητές δεν γνωρίζουν την ομάδα του κάθε ζώου. Δυστυχώς, για αρκετές από τις φαρμακευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της λεϊσμανίωσης του σκύλου οι διαδοχικές αυτές μελέτες δεν έχουν πραγματοποιηθεί, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί λανθασμένα δοσολογικά σχήματα. Το χαρακτηριστικότερο ίσως παράδειγμα είναι εκείνο της αμινοσιδίνης, η οποία στις συγκριτικές μελέτες χορηγήθηκε σε μη σωστή δόση (5mg/kg Σ.Β.) και συχνότητα (κάθε 12 ώρες). Ακόμη και σήμερα δεν επιτυγχάνεται παρασιτολογική ίαση στην πλειονότητα των περιστατικών, ανεξάρτητα από το χρησιμοποιούμενο κάθε φορά θεραπευτικό πρωτόκολλο. Ακόμη, όμως, και στην περίπτωση που θα ήταν εφικτή, δεν θα είχε ιδιαίτερη αξία για τους σκύλους εκείνους που ζουν στις ενδημικές περιοχές λόγω των συνεχών επαναμολύνσεων. Αντίθετα, η σημασία της μεταβολής της ανοσολογικής ανταπόκρισης του ξενιστή απέναντι στο πρωτόζωο είναι καθοριστική για την αποφυγή των υποτροπών μετά το τέλος της θεραπείας. Τέλος, η πιθανότητα μόλυνσης των φλεβοτόμων μειώνεται χωρίς όμως να μηδενίζεται, τουλάχιστον με τα θεραπευτικά πρωτόκολλα που έχουν ελεγχθεί μέχρι σήμερα. Αν και το γεγονός αυτό δεν φαίνεται να έχει ιδιαίτερη σημασία από επιζωτιολογική άποψη, θα μπορούσε να ενέχει τον κίνδυνο εξάπλωσης των ανθεκτικών στελεχών του πρωτόζωου. Το επιστημονικά σωστό δοσολογικό σχήμα, η χρησιμοποίηση διαφορετικού φαρμάκου σε περίπτωση υποτροπής, ο συνδυασμός ουσιών που έχουν διαφορετικό μηχανισμό δράσης και η κατά το δυνατό αποφυγή των φαρμάκων εκείνων που χρησιμοποιούνται στη σπλαγχνική λεϊσμανίωση του ανθρώπου, έχουν προταθεί ως μέτρα που θα μπορούσαν να μειώσουν ή να καθυστερήσουν τη δημιουργία ανθεκτικών στελεχών. Η αμινοσιδίνη έχει από τη φύση της δύο βασικά μειονεκτήματα, αφού χορηγείται παρεντερικώς και αντενδείκνυται σε σκύλους με νεφρική ανεπάρκεια. Ωστόσο, έχει και αρκετά πλεονεκτήματα, όπως είναι το μικρό κόστος, η διάθεσή της στο εμπόριο, η χορήγηση μια φορά την ημέρα, το ικανοποιητικό κλινικό αποτέλεσμα και η ασφάλεια στο σωστό δοσολογικό σχήμα και το γεγονός ότι στις μεσογειακές χώρες δεν χρησιμοποιείται στη θεραπευτική αντιμετώπιση της σπλαγχνικής λεϊσμανίωσης του ανθρώπου. Για τους παραπάνω λόγους, και προκειμένου να αποδειχθεί, πέρα από κάθε αμφιβολία, το κατά πόσο θα πρέπει να θεωρείται ή όχι ουσία «πρώτης επιλογής» για τη θεραπεία της λεϊσμανίωσης του σκύλου, είναι απαραίτητο να γίνουν σωστά σχεδιασμένες συγκριτικές μελέτες.

Λέξεις ευρετηρίασης: σκύλος, λεϊσμανίωση, θεραπεία, αμινοσιδίνη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ηλεϊσμανίωση του σκύλου (ΛΣ), που οφείλεται στη *Leishmania infantum* (συνώνυμο: *L. chagasi*), εμφανίζεται στις μεσογειακές χώρες, την Πορτογαλία, τη Δυτική Αφρική, τη Νότιο Ασία, τη Λατινική Αμερική και τις Η.Π.Α. (Dereure et al. 1999, Ashford and Snowden 2000, Gaskin et al. 2002, Dantas-Torres 2007). Στην Ελλάδα η νόσος είναι ενδημική, με συχνότητα που σε ορισμένες τουλάχιστον περιοχές πλησιάζει το 30% μεταξύ των ασθενών σκύλων (Leontides et al. 2002), ενώ τα ποσοστά των ορολογικά θετικών και των μολυσμένων ζώων ανέρχονται μέχρι και στο 48% και 63%, αντίστοιχα (Sideris et al. 1996, Leontides et al. 2002). Αν και η μαζική χρησιμοποίηση φαρμακευτικών ουσιών που απωθούν και σκοτώνουν τους φλεβοτόμους (δελταμεθρίνη, περμεθρίνη) μειώνει σημαντικά τη συχνότητα της νόσου (Foglia Manzillo et al. 2006), θεωρείται βέβαιο ότι η ΛΣ θα συνεχίσει να απασχολεί τους κτηνιάτρους μέχρι να υπάρξει εμπορικά διαθέσιμο και αποτελεσματικό εμβόλιο (Miró et al. 2008).

Οι φαρμακευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική αντιμετώπιση της ΛΣ, μόνες τους ή σε διάφορους μεταξύ τους συνδυασμούς, έχουν κατηγοριοποιηθεί πρόσφατα (Miró et al. 2008) σε ουσίες «πρώτης» (αντιμονιακή μεγλουμίνη, αλλοπουρινόλη, συνδυασμός των δύο παραπάνω, αμφοτερικίνη Β) και «δεύτερης επιλογής» (αμινοσιδίνη, πενταμιδίνη, μετρονιδαζόλη σε συνδυασμό με την ενροφλοξασίνη ή τη σπιραμυκίνη, μιλτεφοσίνη, κετοκοναζόλη). Χωρίς να αναφέρεται σαφώς από τους παραπάνω συγγραφείς, η ταξινόμηση της μιλτεφοσίνης στις ουσίες «δεύτερης επιλογής», παρά το γεγονός ότι σε αρκετές ευρωπαϊκές χώρες έχει άδεια κυκλοφορίας με ένδειξη τον έλεγχο των συμπτωμάτων της νόσου, ενδέχεται να οφείλεται στην έλλειψη ανεξάρτητων δημοσιευμένων μελετών για την αποτελεσματικότητά της. Σε κάθε περίπτωση, γεγονός είναι ότι οι περισσότεροι σκύλοι με ΛΣ, στην Ελλάδα και τις υπόλοιπες μεσογειακές χώρες, αντιμετωπίζονται με τη χορήγηση αντιμονιακής μεγλουμίνης ή μιλτεφοσίνης, σε συνδυασμό ή όχι με αλλοπουρινόλη.

Μέχρι σήμερα, στις βασικές παραμέτρους, όπου στηρίζεται η επιλογή της φαρμακευτικής αγωγής, εξακολουθούν να περιλαμβάνονται η αποτελεσματικότητα της κάθε ουσίας για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων και των εργαστηριακών μεταβολών της ΛΣ, η μειωμένη μετάδοση του πρωτόζωου στους φλεβοτόμους και η αλλαγή της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή προκειμένου να γίνει ανθεκτικός απέναντι στο παράσιτο (Saridomichelakis et al. 2001, Baneth 2002). Ωστόσο, η δυνατότητα περισσότερων επιλογών επιβάλλει τη συνεκτίμηση και άλλων παραγόντων, όπως είναι η οδός και η συχνότητα χορήγησης, η ασφάλεια και το κόστος της θεραπείας και η σύγκριση της αποτελεσματικότητας των διαφόρων θεραπευτικών πρωτοκόλλων με κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες. Τέλος, τα νεότερα δεδομένα πάνω στην επιζωτιολογία της μόλυνσης του σκύλου από την *L. infantum* έχουν αλλάξει το σκεπτικό της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας ως προς την αναγκαιότητα της παρασιτολογικής ίασης των σκύλων που ζουν σε ενδημικές περιοχές και υποβάλλονται σε θεραπεία.

ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΤΟΥ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΣΤΗ ΛΕΪΣΜΑΝΙΩΣΗ ΤΟΥ ΣΚΥΛΟΥ

Οδός χορήγησης

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι ανάμεσα σε δυο, ισοδύναμες κατά τα άλλα, φαρμακευτικές ουσίες προτιμότερη είναι εκείνη που χορηγείται από το στόμα. Η χορήγηση από το στόμα πλεονεκτεί, επειδή επιτρέπει τη θεραπεία από τον ιδιοκτήτη στο χώρο διαβίωσης του ζώου, ενώ παράλληλα αποφεύγονται οι εγχύσεις και οι αντιδράσεις στα σημεία τους, όπως η δερματίτιδα και υποδερματίτιδα, τα σηπτικά και άσηπτα αποστήματα μετά τη χορήγηση αντιμονιακής μεγλουμίνης (Slappendel and Ferrer 1998, Ikeda-Garcia et al. 2007), καθώς και η φλεβίτιδα-περιφλεβίτιδα από την έγχυση της αμφοτερικίνης Β (Lamothe 1997). Στη χώρα μας, δεν είναι σπάνιο να δίδονται οδηγίες στον ιδιοκτήτη για να χορηγεί μόνος του (συνήθως υποδόρια) ενέσιμα φάρμακα, όπως η αντιμονιακή μεγλουμίνη και η αμινοσιδίνη (παρομομυκίνη, μονομυκίνη). Η πρακτική αυτή αποτρέπει την ανάγκη νοσηλείας ή καθημερινών επισκέψεων στο ιατρείο και μειώνει το κόστος της θεραπείας, αλλά πρέπει να εγκαταλειφθεί επειδή θέτει σε κίνδυνο όχι μόνο τον ίδιο το σκύλο, αλλά και τον ιδιοκτήτη του. Επιπλέον, σύμφωνα με την κλινική εμπειρία των συγγραφέων, η συχνότητα των τοπικών αντιδράσεων στα σημεία των εγχύσεων αυξάνει σημαντικά όταν η αντιμονιακή μεγλουμίνη χορηγείται από τους ιδιοκτήτες.

Συχνότητα χορήγησης και δοσολογία

Αν και δεν υπάρχει αμφιβολία ότι τα κατά το δυνατό μεγαλύτερα διαστήματα μεταξύ των διαδοχικών

χορηγήσεων ενός φαρμάκου κάνουν περισσότερο πρακτική τη θεραπεία, η συχνότητα χορήγησης, όπως άλλωστε και η δοσολογία, πρέπει να καθορίζονται με βάση τις φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες της κάθε ουσίας (Toutain et al. 2002). Το ιδανικό είναι οι ιδιότητες αυτές να μελετώνται σε άρρωστους και όχι σε κλινικά υγιείς σκύλους. Για παράδειγμα, η κοκκιωματώδης ή πυοκοκκιωματώδης φλεγμονή του εντέρου που συνοδεύει τη ΛΣ (Ciaramella and Corona 2003) θα μπορούσε να επηρεάσει την απορρόφηση των αντιλεϊσμανιακών φαρμάκων, ενώ οι αλλοιώσεις του ήπατος και των νεφρών (Rallis et al. 2005, Plevraki et al. 2006) ενδέχεται να επιδράσουν στο μεταβολισμό και την απέκκριση όλων σχεδόν των χρησιμοποιούμενων ουσιών. Δυστυχώς, όμως, δεν υπάρχουν παρά ελάχιστες φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές μελέτες σε σκύλους με φυσική ή πειραματική νόσο (Valladares et al. 1998, Athanasiou 2004). Συνεπώς, είμαστε υποχρεωμένοι να επιλέγουμε το δοσολογικό σχήμα με βάση τα αποτελέσματα που προκύπτουν από μελέτες σε κλινικά υγιείς σκύλους.

Το όλο θέμα περιπλέκεται ακόμα περισσότερο επειδή οι γνώσεις μας πάνω στη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική των διαφόρων ουσιών που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της ΛΣ στηρίζονται στις συγκεντρώσεις τους στο αίμα, χωρίς απαραίτητα να αντανακλούν τις συγκεντρώσεις και την αποτελεσματικότητά τους στα διάφορα παρεγχυματικά όργανα και ιδιαίτερα στο εσωτερικό των μολυσμένων μακροφάγων. Από τις πειραματικές λοιμώξεις σε τρωκτικά του εργαστηρίου είναι γνωστό ότι οι συγκεντρώσεις των πεντασθενών ενώσεων του αντιμονίου στο δέρμα είναι σχετικά μικρές και ότι η αποτελεσματικότητά τους κατά των *Leishmania* spp είναι σημαντικά μεγαλύτερη στο ήπαρ σε σχέση με το σπλήνα (Carter et al. 1988, Balaña-Fouce et al. 1998). Εφόσον ισχύει το ίδιο στο σκύλο, η σημασία του θα πρέπει να είναι μεγάλη, αφού η παρουσία του πρωτόζωου στο δέρμα είναι καθοριστική για τη μόλυνση των φλεβοτόμων (Saridomichelakis et al. 2007). Εξάλλου, ο σπλήνας έχει ενοχοποιηθεί ως το όργανο που επιτρέπει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό της *L. infantum* για μεγάλο χρονικό διάστημα λόγω της ανεπάρκειας της τοπικής ανοσολογικής απάντησης (Lima et al. 2007). Το ίδιο ισχύει και για την αμφοτερικίνη Β, αφού είναι γνωστό ότι δεν μπορεί να διεισδύσει εύκολα στους οφθαλμούς, τα οστά, τις αρθρώσεις και το κεντρικό νευρικό σύστημα (Plotnick 2000), γεγονός που δημιουργεί αμφιβολίες για την αποτελεσματικότητά της σε ζώα με ΛΣ, στα οποία προσβάλλονται τα παραπάνω όργανα και ιστοί (Garcia-Alonso et al. 1996, Agut et al. 2003, Peña et al. 2008).

Τέλος, δεν υπάρχουν αρκετά επιστημονικά δεδομένα για το εάν η δράση των διαφόρων αντιλεϊσμανιακών φαρμάκων εξαρτάται από τη χρονική περίοδο που οι συγκεντρώσεις τους είναι μεγαλύτερες από κάποια κρίσιμη τιμή (χρονοεξαρτώμενη δράση) ή από τη μέγιστη συγκέντρωση που επιτυγχάνουν (δράση που εξαρτάται από τη συγκέντρωση). Αν ισχύει το πρώτο, τότε το φάρμακο πρέπει να χορηγείται συχνότερα και σε σχετικά μικρότερη δόση, ενώ στη δεύτερη περίπτωση αυξάνουν τα μεταξύ των χορηγήσεων διαστήματα, αλλά και η εκάστοτε δόση του φαρμάκου. Για παράδειγμα, το προτεινόμενο για την αντιμονιακή μεγλουμίνη δοσολογικό σχήμα των 75mg/kg Σ.Β. κάθε 12 ώρες στηρίχθηκε στην υπόθεση ότι η δράση της είναι χρονοεξαρτώμενη (Valladares et al. 1998). Εφόσον, όμως, ισχύει το αντίθετο, η αποτελεσματικότητά της θα μπορούσε να είναι μεγαλύτερη αν χορηγείται στη δόση των 100mg/kg Σ.Β., κάθε 24 ώρες (Denerolle and Bourdoiseau 1999).

Η αμινοσιδίνη είναι ίσως το χαρακτηριστικότερο παράδειγμα φαρμάκου που μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται σε λανθασμένο δοσολογικό σχήμα για τη θεραπεία της ΛΣ. Όπως είναι γνωστό, πρόκειται για αμινογλυκωσιδικό αντιμικροβιακό που δρα κατά της *Leishmania* spp με ίδιο μηχανισμό (αναστολή της σύνθεσης των πρωτεϊνών μέσω της δέσμευσης υπομονάδων των ριβοσωματίων) όπως και κατά των βακτηριδίων (Maarouf et al. 1995, Maarouf et al. 1997). Είναι, λοιπόν, λογικό η συνολική δόση της αμινοσιδίνης να χορηγείται μια φορά την ημέρα και όχι διηρημένη ανά 12ωρο, αφού η δράση όλων των αντιμικροβιακών της ομάδας αυτής εξαρτάται από τη μέγιστη συγκέντρωσή τους. Με βάση τα αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης πάνω στην φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική της αμινοσιδίνης σε σκύλους με ΛΣ, προτάθηκε το δοσολογικό σχήμα των 15mg/kg Σ.Β., υποδόρια, μια φορά την ημέρα (Athanasiou 2004). Σε όλες, όμως, τις μελέτες που έχουν δημοσιευθεί μέχρι σήμερα και στις οποίες συγκρίθηκε με τις πεντασθενείς ενώσεις του αντιμονίου, η δόση της ήταν τρεις φορές μικρότερη (5mg/kg Σ.Β.), αλλά χορηγείτο κάθε 12 ώρες (Poli et al. 1997, Noli and Auxilia 2005). Δεν μπορεί, λοιπόν, να αποκλειστεί το ενδεχόμενο η αποτελεσματικότητα της αμινοσιδίνης να είναι μεγαλύτερη εφό-

σον χορηγηθεί στο σωστό δοσολογικό σχήμα.

Κλινική αποτελεσματικότητα - ασφάλεια

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η κλινική ίαση, σε συνδυασμό με την εξαφάνιση των εργαστηριακών διαταραχών που συνοδεύουν τη ΛΣ, και η απουσία παρενεργειών, αποτελούν τις κυριότερες εκείνες παραμέτρους πάνω στις οποίες πρέπει να στηρίζεται η αξιολόγηση κάθε θεραπευτικού πρωτοκόλλου της ΛΣ (Noli and Auxilia 2005). Γενικά, οι μελέτες για τη θεραπεία του νοσήματος αυτού θα μπορούσαν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες (σταδίου Ι, σταδίου ΙΙ και σταδίου ΙΙΙ), αντίστοιχα με εκείνες που έχουν θεσπιστεί για τα αντινεοπλασματικά φάρμακα. Οι μελέτες σταδίου Ι βασικά αποσκοπούν στον καθορισμό της μέγιστης ανεκτής δόσης της συγκεκριμένης φαρμακευτικής ουσίας. Οι μελέτες αυτές συνήθως πραγματοποιούνται από την παρασκευάστρια εταιρεία και τις περισσότερες φορές τα συμπεράσματά τους δεν δημοσιεύονται, αλλά χρησιμοποιούνται για το επόμενο στάδιο. Τα αποτελέσματα, ως προς την τοξικότητα του φαρμάκου, πρέπει να αξιολογούνται με μεγάλη προσοχή και λαμβάνοντας σοβαρά υπόψη το δοσολογικό σχήμα. Σε μελέτη (Vexenat et al. 1998) που θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως σταδίου Ι χορηγήθηκε υποδόρια αμινοσιδίνη στην ημερήσια δόση των 20, των 40 και των 80mg/kg Σ.Β. σε τρεις, 12 και έξι σκύλους με ΛΣ, αντίστοιχα. Όπως ήταν αναμενόμενο, το 17% και το 50% των σκύλων της δεύτερης και της τρίτης ομάδας πέθαναν, αφού η δόση του φαρμάκου ήταν 2,7 και 5,3 φορές μεγαλύτερη από τη συνιστώμενη. Αντίθετα, σε άλλη μελέτη, στην οποία επιλέχθηκε η ημερήσια δόση των 15mg/kg Σ.Β., κανένας από τους 12 σκύλους δεν παρουσίασε ανεπιθύμητες ενέργειες (Athanasiou 2004). Οι μελέτες σταδίου ΙΙ χαρακτηρίζονται από το σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος και το μη συγκριτικό τους χαρακτήρα. Σκοπός είναι να διερευνηθεί το κατά πόσο η ουσία, στο προτεινόμενο δοσολογικό σχήμα που προέκυψε από τις σταδίου Ι μελέτες, έχει πιθανότητες να είναι αποτελεσματική στην πράξη. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι περισσότερες μέχρι σήμερα δημοσιευμένες μελέτες για τη θεραπεία της ΛΣ (Noli and Auxilia 2005). Οι μελέτες σταδίου ΙΙΙ έχουν συγκριτικό χαρακτήρα και για να οδηγήσουν σε αξιόπιστα συμπεράσματα πρέπει να περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό συμπτωματικών σκύλων που να χωρίζονται, με τυχαίο τρόπο, σε δύο ομάδες. Στη μια από τις ομάδες αυτές θα χορηγηθεί η υπό διερεύνηση ουσία και στην άλλη εικονικό φάρμακο ή άλλη ουσία που έχει ήδη αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική. Οι ερευνητές θα πρέπει να μη γνωρίζουν σε ποια θεραπευτική ομάδα ανήκει ο κάθε σκύλος μέχρι το τέλος του πειραματισμού. Οι προϋποθέσεις αυτές θεωρούνται ουσιώδεις προκειμένου να τεκμηριωθεί η θεραπευτική δράση της υπό διερεύνηση ουσίας (σύγκριση με το εικονικό φάρμακο) και να διαπιστωθεί αν έχει μικρότερη, ισάξια ή μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από κάποια άλλη. Δυστυχώς, μέχρι σήμερα, ελάχιστες μόνο μελέτες έχουν δημοσιευθεί που να πληρούν όλα τα παραπάνω κριτήρια (Koutinas et al. 2001, Noli and Auxilia 2005).

Με βάση τα μέχρι σήμερα στοιχεία, η αποτελεσματικότητα της αντιμονιακής μεγλουμίνης, όταν χορηγείται στην ημερήσια δόση τουλάχιστον των 100mg/kg Σ.Β. και για 3-4 εβδομάδες, είναι αδιαμφισβήτητη, ιδιαίτερα όταν συνδυάζεται με την επί μακρό χορήγηση αλλοπουρινόλης (Noli and Auxilia 2005). Κατά συνέπεια, κάθε άλλη αντιλεϊσμανιακή ουσία που χορηγείται παρεντερικώς πρέπει να συγκρίνεται με την αντιμονιακή μεγλουμίνη και εφόσον αποδειχθεί ισάξια ή ανώτερη να περιλαμβάνεται στα φάρμακα «πρώτης επιλογής». Η θεραπευτική δράση της αλλοπουρινόλης, αν και συγκριτικά είναι μικρότερη, έχει αποδειχθεί με σωστά σχεδιασμένη μελέτη σταδίου ΙΙΙ και μάλιστα χωρίς να συνοδεύεται συχνά από παρενέργειες (Koutinas et al. 2001), ενώ το κόστος της είναι ιδιαίτερα μικρό. Κάθε άλλη φαρμακευτική ουσία που χορηγείται από το στόμα και είναι περισσότερο τοξική ή έχει μεγαλύτερο κόστος πρέπει να συγκρίνεται με την αλλοπουρινόλη για να αποδειχθεί ότι υπερέχει και, αν είναι αρκετά αποτελεσματική, να συγκρίνεται στη συνέχεια με την αντιμονιακή μεγλουμίνη.

Παρασιτολογική ίαση και μεταβολή της ανοσολογικής απάντησης του σκύλου

Σήμερα είναι γνωστό ότι οι περισσότεροι σκύλοι με ΛΣ παραμένουν μολυσμένοι μετά το τέλος της θεραπείας, ανεξάρτητα από το πρωτόκολλο που θα χρησιμοποιηθεί (Noli and Auxilia 2005, Baneth and Aroch 2008, Miró et al. 2008). Ακόμη, όμως, αν επιτυγχανόταν παρασιτολογική ίαση, από τη στιγμή που ο σκύλος εξακολουθεί να ζει σε περιοχή στην οποία η ΛΣ ενδημεί, θεωρείται σχεδόν βέβαιο ότι θα επαναμολυνθεί και μάλιστα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Έχει υπολογιστεί ότι στις περιοχές αυτές και κάτω από κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες, ένας σκύλος μπορεί να δεχθεί, κατά τη διάρκεια της νύχτας και

κάθε ώρα, περισσότερα από 100 νύγματα φλεβοτόμων, το 1% περίπου των οποίων είναι μολυσμένοι (Gradoni 2002). Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι ο σκύλος θα δεχθεί περίπου ένα μολυσμένο νύγμα κάθε ώρα που ισοδυναμεί με ενοφθαλμισμό 100-1.000 προμαστιγοφόρων μορφών του παρασίτου (Warburg and Schlein 1986, Moreno and Alvar 2002). Με βάση τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι η παρασιτολογική ίαση, όχι μόνο δεν είναι εφικτή, αλλά δεν αποτελεί και τον κύριο στόχο της θεραπείας. Αυτό που έχει σημασία για την αποφυγή των υποτροπών της νόσου, ανεξάρτητα από το εάν οφείλονται στην αναζωπύρωση της προϋπάρχουσας λοίμωξης ή σε νέα μόλυνση, είναι η μεταβολή της ανοσολογικής απάντησης του σκύλου απέναντι στο πρωτόζωο.

Η σημαντικότερη ανοσολογική διαφορά μεταξύ ευαίσθητων (κλινικά περιστατικά) και των ανθεκτικών (ασυμπτωματικοί φορείς) απέναντι στο παράσιτο σκύλων είναι η ανεπάρκεια της κυτταρικής ανοσίας των πρώτων, με αποτέλεσμα την αδυναμία των μακροφάγων να εξουδετερώσουν τις αμαστιγοφόρες μορφές που πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα (Cabral et al. 1992, De Luna et al. 1999, Baneth et al. 2008). Σήμερα υπάρχουν ενδείξεις ότι η θεραπεία μπορεί να βοηθήσει στη μεταβολή της ανοσολογικής απάντησης των ευαίσθητων σκύλων (Baneth and Aroch 2008, Miró et al. 2008), χωρίς όμως να υπάρχουν μελέτες που να συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα των διαφόρων αντιλεϊσμανιακών φαρμάκων ως προς το σκοπό αυτό.

Μετάδοση των πρωτόζωου στους φλεβοτόμους

Στις χώρες της Μεσογείου υπολογίζεται ότι το 2-5% περίπου του συνολικού πληθυσμού των σκύλων εμφανίζει σε κάποια στιγμή της ζωής του τη νόσο, ενώ το 10-30% είναι ορολογικά θετικό και το 50-80% μολυσμένο (Cabral et al. 1998, Ferrer 1999, Leontides et al. 2002). Επιπλέον, είναι γνωστό ότι το πρωτόζωο μεταδίδεται στο 3-100% των φλεβοτόμων που νύσσουν μολυσμένους σκύλους και ότι το 16-88% των τελευταίων μπορούν να μολύνουν τους φλεβοτόμους (Miles et al. 1999, Guarga et al. 2000, da Costa-Val et al. 2007, Michalsky et al. 2007), ενώ παράλληλα η πιθανότητα μετάδοσης μειώνεται με τη θεραπεία (Gradoni et al. 1987). Με βάση τα παραπάνω, η σημασία των συμπτωματικών σκύλων, κατά τη διάρκεια και μετά τη θεραπεία, στην επιζωτιολογία της ΛΣ φαίνεται να είναι μικρή και δεν θα απασχολούσε ιδιαίτερα τη διεθνή επιστημονική κοινότητα αν δεν είχε προκύψει το πρόβλημα της εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών του πρωτόζωου (Miles et al. 1999, Carrió and Portús 2002). Σήμερα είναι γνωστό ότι υπάρχουν στελέχη που είναι από τη φύση τους ανθεκτικά ή έγιναν ανθεκτικά λόγω της έκθεσής τους στις πεντασθενείς ενώσεις του αντιμονίου, την αμφοτερικίνη Β, την αμινοσιδίνη και τη μιλτεφοσίνη (Carrió and Portús 2002, Croft et al. 2006, Miró et al. 2008). Χωρίς να είναι γνωστές οι πιθανότητες μετάδοσης ανθεκτικών στελεχών από τους υπό θεραπεία σκύλους στους φλεβοτόμους και στη συνέχεια σε άλλους σκύλους ή στον άνθρωπο, πρέπει να καταβληθεί μεγάλη προσπάθεια για την πρόληψη του φαινομένου αυτού (Gramiccia et al. 1992, Carrió and Portús 2002). Συγκεκριμένα, θα μπορούσαν να βοηθήσουν η αποφυγή χορήγησης αντιλεϊσμανιακών φαρμάκων σε μικρότερη από τη συνιστώμενη δόση ή για μικρό χρονικό διάστημα, η αποφυγή χρησιμοποίησης της ίδιας ουσίας σε περίπτωση υποτροπής, η αποφυγή των φαρμάκων εκείνων στα οποία στηρίζεται η θεραπεία της σπλαγχνικής λεϊσμανίωσης των ανθρώπων, εφόσον αυτό είναι δυνατό και, τέλος, η χρησιμοποίηση συνδυασμών αντιλεϊσμανιακών ουσιών που δρουν με διαφορετικό μηχανισμό (Gramiccia et al. 1992, Saridomichelakis et al. 2001, Croft et al. 2006).

Η ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΑΜΙΝΟΣΙΔΙΝΗΣ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΛΕΪΣΜΑΝΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΣΚΥΛΟΥ

Από τη φύση της η αμινοσιδίνη έχει το μειονέκτημα ότι μπορεί να χορηγηθεί μόνο παρεντερικά και κατά προτίμηση υποδόρια και ότι αντενδείκνυται σε σκύλους με νεφρική ανεπάρκεια. Σε σύγκριση, όμως, με τα υπόλοιπα αντιλεϊσμανιακά φάρμακα που χορηγούνται παρεντερικά (αντιμονιακή μεγλουμίνη, αμφοτερικίνη Β), το κόστος της είναι σημαντικά μικρότερο και επιπλέον διατίθεται στην ελληνική αγορά. Τα παραπάνω θεωρούνται πλεονεκτήματα, ιδιαίτερα όταν οι οικονομικές δυνατότητες των ιδιοκτητών είναι περιορισμένες. Η συχνότητα χορήγησης (μια φορά την ημέρα) στο προτεινόμενο δοσολογικό σχήμα των 15mg/kg Σ.Β. (Athanasiou 2004) είναι ίδια ή μικρότερη σε σύγκριση με την αντιμονιακή μεγλουμίνη και μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αμφοτερικίνη Β, στην οποία, όμως, απαιτείται η στάγδην ενδοφλέβια έγχυση. Με βάση τα μέχρι σήμερα δεδομένα, η κλινική της αποτελεσματικότητα φαίνεται να είναι εφάμιλλη, ενώ η συχνότητα των παρενεργειών σχετικά περιορισμένη (<10%) χωρίς να ξεπερνάει τις αντίστοιχες της

αντιμονιακής μεγλουμίνης ή της αμφοτερικής Β (Oliva et al. 1998, Athanasiou 2004, Noli and Auxilia 2005). Επιπλέον, και σε αντίθεση με τις δύο παραπάνω ουσίες, η αμινοσιδίνη δεν χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της σπλαγχνικής λεϊσμανίωσης του ανθρώπου, τουλάχιστον στις μεσογειακές χώρες.

Με βάση τα παραπάνω φαίνεται ότι η αμινοσιδίνη έχει τις προϋποθέσεις να αποτελέσει ένα ακόμη φάρμακο «πρώτης επιλογής» για τη θεραπεία της ΛΣ σε ζώα που δεν πάσχουν από νεφρική ανεπάρκεια. Το ίδιο θα μπορούσε να υποστηριχθεί και για τις υποτροπές της νόσου. Για να τεκμηριωθούν τα παραπάνω κατά τρόπο επιστημονικά αναμφισβήτητο είναι απαραίτητο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητά της με εκείνη της αντιμονιακής μεγλουμίνης με κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες (σταδίου ΙΙΙ).

REFERENCES - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Agut A, Corzo N, Murciano J, Laredo FG, Soler M (2003) Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. The Veterinary Record, 153:648-652.

Ashford RW, Snowden KF (2000) The leishmaniases. In: Dogs, Zoonoses and Public Health. CABI Publishing, Oxon and New York, pp 132-140.

Athanasiou LV, 2004. Contribution to the study of epidemiology, diagnosis and treatment of canine leishmaniosis. Thesis. Aristotles University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

Balaña-Fouce R, Reguera RM, Cubría JC, Ordóñez D (1998) The pharmacology of leishmaniasis. General Pharmacology 30:435-443.

Baneth G (2002) A review of the treatment of canine leishmaniasis. In: Canine Leishmaniasis: moving towards a solution. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum, (Sevilla, Spain), pp 15-19.

Baneth G, Aroch I (2008) Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. The Veterinary Journal, 175:14-15.

Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L (2008) Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends in Parasitology, 24:324-330.

Cabral M, O'Grady JE, Gomes S, Sousa JC, Thompson H, Alexander J (1998) The immunology of canine leishmaniosis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. Veterinary Parasitology, 76:173-180.

Cabral M, O'Grady J, Alexander J (1992) Demonstration of *Leishmania* specific cell mediated and humoral immunity in asymptomatic dogs. Parasite Immunology, 14:531-539.

Carrió J, Portús M (2002) In vitro susceptibility to pentavalent antimony in *Leishmania infantum* strains is not modified during *in vitro* or *in vivo* passages but is modified after host treatment with meglumine antimoniate. BMC Pharmacology, 2:11.

Carter KC, Baillie AJ, Alexander J, Dolan TF (1988) The therapeutic effect of sodium stibogluconate in BALB/c mice infected with *Leishmania donovani* is organ-dependent. The Journal of Pharmacy and Pharmacology 40:370-373.

Ciaramella P, Corona S (2003) Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 25:358-368.

Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH (2006) Drug resistance in leishmaniasis. Clinical Microbiology Reviews, 19:111-126.

da Costa-Val AP, Cavalcanti RR, de Figueiredo Gontijo N, Michalick MS, Alexander B, Williams P, Melo MN (2007) Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. The Veterinary Journal, 174:636-643.

Dantas-Torres F (2007) The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Veterinary Parasitology, 149:139-146.

De Luna R, Vuotto ML, Ielpo MT, Ambrosio R, Piantedosi D, Moscatiello V, Ciaramella P, Scalone A, Gradoni L, Mancino D (1999) Early suppression of lymphoproliferative response in dogs with natural infection by *Leishmania infantum*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 70:95-103.

Denerolle P, Bourdoiseau G (1999) Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). Journal of Veterinary Internal Medicine, 13:413-415.

Dereure J, Pratlong F, Dedet JP (1999) Geographical distribution and the identification of parasites causing canine leishmaniasis in the Mediterranean basin. In: Canine Leishmaniasis: an Update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum, (Barcelona, Spain), pp 18-25.

Ferrer L (1999) Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: Canine Leishmaniasis: an Update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum, (Barcelona, Spain), pp 6-10.

Foglia Manzillo V, Oliva G, Pagano A, Manna L, Maroli M, Gradoni L (2006) Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: Evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of *Leishmania* infection in kennelled stray dogs. Veterinary Parasitology, 142:142-145.

Garcia-Alonso M, Nieto CG, Blanco A, Requena JM, Alonso C, Navarrete I (1996) Presence of antibodies in the aqueous humour and cerebrospinal fluid during *Leishmania* infections in dogs. Pathological features at the central nervous system. Parasite Immunology, 18:539-546.

Gaskin AA, Schantz P, Jackson J, Birkenheuer A, Tomlinson L, Gramiccia M, Levy M, Steuer F, Kollmar E, Hegarty BC, Ahn A, Breitschwerdt EB (2002) Visceral leishmaniasis in a New York foxhound kennel. Journal of Veterinary Internal Medicine, 16:34-44.

Gradoni L (2002) The diagnosis of canine leishmaniasis. In: Canine Leishmaniasis: Moving Towards a Solution. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum, (Sevilla, Spain), pp 7-14.

Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, Mancianti F (1987) *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. Medical and Veterinary Entomology, 1:339-342.

Gramiccia M, Gradoni L, Orsini S (1992) Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (Glucantime) of Leishmania infantum isolated from dogs after several courses of drug treatment. Annals

of Tropical Medicine and Parasitology, 86:613-620.

Guarga JL, Moreno J, Lucientes J, Gracia MJ, Peribáñez MA, Alvar J, Castillo JA (2000) Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. Research in Veterinary Science, 69:249-253.

Ikeda-Garcia FA, Lopes RS, Marques FJ, de Lima VM, Morinishi CK, Bonello FL, Zanette MF, Perri SH, Feitosa MM (2007) Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to treatment with meglumine antimoniate. Veterinary Parasitology, 143:254-259.

Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Mylonakis ME, Leontides L, Polizopoulou Z, Billinis C, Argyriadis D, Diakou N, Papadopoulos O (2001) A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. Veterinary Parasitology, 98:247-261.

Lamothe J (1997) Essai de traitement de la leishmaniose canine par l'amphotéricine B (39 cas). Pratique Médicale et Chirurgicale de l Animal de Compagnie, 32:133-141.

Leontides LS, Saridomichelakis MN, Billinis C, Kontos V, Koutinas AF, Galatos AD, Mylonakis ME (2002) A cross-sectional study of *Leishmania* spp. infection in clinically healthy dogs with polymerase chain reaction and serology in Greece. Veterinary Parasitology, 109:19-27.

Lima WG, Oliveira PS, Caliari MV, Gonçalves R, Michalick MS, Melo MN, Tafuri WL, Tafuri WL (2007) Histopathological and immunohistochemical study of type 3 complement receptors (CD11b/CD18) in livers and spleens of asymptomatic and symptomatic dogs naturally infected with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 117:129-136.

Maarouf M, Lawrence F, Brown S, Robert-Gero M (1997) Biochemical alterations in paromomycin-treated *Leishmania donovani* promastigotes. Parasitology Research, 83:198-202.

Maarouf M, Lawrence F, Croft SL, Robert-Gero M (1995) Ribosomes of *Leishmania* are a target for the aminoglycosides. Parasitology Research, 81:421-425.

Michalsky EM, Rocha MF, da Rocha Lima AC, França-Silva JC, Pires MQ, Oliveira FS, Pacheco RS, dos Santos SL, Barata RA, Romanha AJ, Fortes-Dias CL, Dias ES (2007) Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to Lutzomyia longipalpis phlebotomine sand flies. Veterinary Parasitology, 147:67-76.

Miles MA, Vexenat JA, Furtado Campos JH, Fonseca de Castro JA (1999) Canine leishmaniasis in Latin America: control strategies for visceral leishmaniasis. In: Canine Leishmaniasis: an Update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum, (Barcelona, Spain), pp 46-53.

Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Oliva G, Baneth G (2008) Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. Trends in Parasitology, 24:371-377.

Moreno J, Alvar J (2002) Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. Trends in Parasitology, 18:399-405.

Noli C, Auxilia ST (2005) Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. Veterinary Dermatology, 16:213-232.

Oliva G, Gradoni L, Cortese L, Orsini S, Ciaramella P, Scalone A, de Luna R, Persechino A (1998) Comparative efficacy of meglumine antimoniate and aminosidine sulphate, alone or in combination, in canine leishmaniasis. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 92:165-171.

Peña MT, Naranjo C, Klauss G, Fondevila D, Leiva M, Roura X, Davidson MG, Dubielzig RR (2008) Histopathological features of ocular leishmaniosis in the dog. Journal of Comparative Pathology, 138:32-39.

Plevraki K, Koutinas AF, Kaldrymidou H, Roumpies N, Papazoglou LG, Saridomichelakis MN, Savvas I, Leondides L (2006) Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). Journal of Veterinary Internal Medicine, 20:228-233.

Plotnick AN (2000) Lipid-based formulations of amphotericin B. Journal of the American Veterinary Medical Association, 216:838-841.

Poli A, Sozzi S, Guidi G, Bandinelli P, Mancianti F (1997) Comparison of aminosidine (paromomycin) and sodium stibogluconate for treatment of canine leishmaniasis. Veterinary Parasitology, 71:263-271.

Rallis T, Day MJ, Saridomichelakis MN, Adamama-Moraitou KK, Papazoglou L, Fytianou A, Koutinas AF (2005) Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. Journal of Comparative Pathology, 132:145-152.

Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Mylonakis ME (2001) Treatment of canine leishmaniosis: An update. Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society, 52:97-106.

Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Olivry T, Dunston SM, Farmaki R, Koutinas CK, Petanides T (2007) Regional parasite density in the skin of dogs with symptomatic canine leishmaniosis. Veterinary Dermatology, 18:227-233.

Sideris V, Karagouni E, Papadopoulou G, Garifallou A, Dotsika E (1996) Canine visceral leishmaniasis in the great Athens area, Greece. Parasite, 3:125-130.

Slappendel RJ, Ferrer L (1998) Leishmaniasis. In: Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd ed, W.B. Saunders, Philadelphia, pp 450-458.

Toutain PL, del Castillo JR, Bousquet-Mélou A (2002) The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. Research in Veterinary Science, 73:105-114.

Valladares JE, Riera C, Alberola J, Gállego M, Portús M, Cristòfol C, Franquelo C, Arboix M (1998) Pharmacokinetics of meglumine antimoniate after administration of a multiple dose in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum*. Veterinary Parasitology, 75:33-40.

Vexenat JA, Olliaro PL, Fonseca de Castro JA, Cavalcante R, Furtado Campos JH, Tavares JP, Miles MA (1998) Clinical recovery and limited cure in canine visceral leishmaniasis treated with aminosidine (paromomycin). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 58:448-453.

Warburg A, Schlein Y (1986) The effect of post-bloodmeal nutrition of *Phlebotomus papatasi* on the transmission of *Leishmania major*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 35:926-930.