

Relato de caso

Ádriny Taísa Pereira De Sousa ¹
Yasmin da Silva Roriz ¹
Simone Vieira Castro ¹

Miltefosina no tratamento de leishmaniose visceral canina

Use of miltefosin in the treatment of canine visceral leishmaniasis

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis is a cosmopolitan distribution disease, also known as Kala-azar. The etiologic agent is a protozoan of the *Leishmania* genus. The canines are the most affected in the urban cycle, being considered reservoirs. Clinical signs include weight loss, hepatomegaly, splenomegaly, and dermatological disorders, among others. The final diagnosis is based on the laboratory tests, being the main methods for such confirmation the immunoenzymatic assay – ELISA, indirect immunofluorescence - IFA and molecular diagnostic techniques as PCR. Currently, the only drug allowed in Brazil as a first treatment is Miltefosine. This work reports a treatment of canine visceral leishmaniasis based on Miltefosine, in which clinical cure was obtained. A 2-year-old canine admitted to the clinic with dermatological signs, and visceral leishmaniasis was diagnosed with rapid screening test and confirmed by PCR. Treatment with Miltefosine was initiated concomitantly with supportive therapy. Immediately after the 28 day treatment and after eight months quantitative PCR was performed, in both the results negative. In conclusion, the patient had a clinical cure and the PCR showed absence of circulating forms of *Leishmania* up to 8 months after treatment.

¹. Centro Universitário da Amazônia UNAMA - Santarém

KEYWORDS

Leishmania, Onychogryphosis, Milteforan.

PALAVRAS - CHAVE

Leishmania; onicogifose; Milteforan.

AUTOR CORRESPONDENTE:

Simone Vieira Castro
<simone_medvet@hotmail.com>
Endereço: Centro Universitário UNAMA. Rua Rosa Vermelha, n. 335, Aeroporto Velho, Santarém-PA, Brasil. CEP: 68010-200

RESUMO

A leishmaniose visceral é uma enfermidade de distribuição cosmopolita, também conhecida como calazar. Tem como agente etiológico um protozoário do gênero *Leishmania*. A espécie canina é a mais acometida no ciclo urbano, sendo consideradas reservatórios. Os sinais clínicos incluem emagrecimento, hepatomegalia, esplenomegalia e alterações dermatológicas, entre outros. O diagnóstico conclusivo é baseado nos exames laboratoriais, sendo os principais métodos para tal confirmação o ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (RIFI) e o exame molecular (PCR). Atualmente, o único fármaco permitido no Brasil como forma de tratamento para cães é a Miltefosina. O presente trabalho relata um tratamento de leishmaniose visceral canina a base de Miltefosina, no qual foi obtida cura clínica. Um canino de 2 anos deu entrada na clínica, com sinais dermatológicos e, ao realizar o teste de triagem rápida, foi diagnosticada leishmaniose visceral canina, confirmada por PCR. Foi instaurado o tratamento à base de Miltefosina, concomitante com terapia de suporte. Imediatamente após os 28 dias de tratamento e após oito meses, foi realizado PCR quantitativo, em ambos o resultado foi negativo. Em conclusão, o paciente apresentou cura clínica e o PCR revelou ausência de formas circulantes de *Leishmania* até 8 meses após o tratamento.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma enfermidade com distribuição mundial. Consiste em uma antropozoonose de grande importância principalmente em regiões tropicais, sendo que, nas Américas do Sul e Central, apresenta-se como doença endêmica, acometendo principalmente caninos e humanos nos centros urbanos (MAGALHÃES et al., 2016).

Também conhecida como calazar, esta enfermidade tem como agente etiológico protozoários do gênero *Leishmania*. Nos ambientes rurais, raposas, coiotes, marsupiais e outros mamíferos têm grande importância no ciclo biológico do parasita. Já nos centros urbanos, os cães recebem lugar de destaque por serem os mais acometidos, sendo considerado o principal reservatório nessas áreas. A íntima convivência do cão com o homem facilita a propagação da doença, uma vez que o vetor não faz longos voos; desta forma, a proximidade do animal infectado com o humano eleva a probabilidade de transmissão (ÁVILA, 2018).

A transmissão ocorre através da picada do flebotomíneo, principalmente da espécie *Lutzomyia longipalpis*, conhecido como mosquito-palha, birigui ou tatuquira (ALBUQUERQUE; LANGONI, 2018).

As principais espécies envolvidas com a infecção da leishmaniose visceral dependem da sua localização geográfica. Na Ásia e na África, predomina a *Leishmania (L.) donovani*. Na Ásia, na Europa e na África, é mais comum a espécie *Leishmania (L.) infantum*. Nas Américas, incluindo o Brasil, a espécie dominante é *Leishmania (L.) Chagasi* (BRASIL, 2006).

A LV é uma enfermidade silenciosa e só começa a apresentar sinais quando atinge o estágio clássico da doença. Em humanos, apresenta-se por linfadenomegalia, processos hemorrágicos, anemia, perda de peso, hepatoesplenomegalia, desnutrição, infecções secundárias e febre. Em alguns casos, pode causar tosse e diarreia, além de alopecia, alterações cutâneas, nas unhas, e edema nas regiões periféricas (CONTRERAS et al., 2019).

No cão, além desses sinais, as principais alterações são as dermatológicas, sendo a principal a dermatite esfoliativa com descamação branca prateada na região da cabeça, orelhas e extremidades, e hiperqueratose, na região do focinho (CONTRERAS et al., 2019). Pode ocorrer onicogribose, dermatite ulcerativa, uveíte anterior, conjuntivite, rinite, pneumonia intersticial, secreção ocular, poliartrite neutrofílica e glomerulonefrite, apresentando ainda hepatomegalia e esplenomegalia. (SHERDING, 2006; LAPPIN, 2009; FREITAS et al., 2017).

O diagnóstico deve ser baseado nos dados epidemiológicos e sinais clínicos, porém, para diagnóstico confirmatório, devem ser realizados exames laboratoriais, podendo ser parasitológico por pesquisa de amastigota em punções de órgãos linfóides ou os métodos utilizados como confirmação como o ensaio imunoenzimático - ELISA, a reação de imunofluorescência indireta - RIFI, ou ainda o exame molecular - PCR, sendo este último o mais específico (ALBUQUERQUE; LANGONI, 2018).

Segundo o Ministério da Saúde (2006), no Brasil, é recomendada a prática da eutanásia a todos os animais sororreagentes ou com exame parasitológico positivo. Porém, Machado e outros (2016) afirmam que

evidências científicas ratificam que eutanasiar cães não é uma medida eficaz na eliminação da leishmaniose visceral canina, por conta de vários fatores, tais como o constante tráfego de animais, falta de conhecimento sobre manejo reprodutivo, o que aumenta o número de cães errantes, além da falta de saneamento básico, que propicia a multiplicação do vetor.

Desde 2017, foi possível tratar a leishmaniose visceral canina com um medicamento específico aprovado para este fim. Atualmente, o único fármaco permitido, no Brasil, como forma de tratamento para cães, é o Milteforan® (Virbac), à base de Miltefosina. De acordo com o boletim técnico da Virbac® (2017), a miltefosina é um fosfolípídio com uma estrutura parecida aos compostos metabolizados pelo parasito *Leishmania*. Atua inibindo a síntese da membrana celular do parasito e interrompe as vias de sinalização que estão presentes nessa membrana (RIBEIRO et al., 2016).

O presente trabalho tem como objetivo relatar o uso da Miltefosina no tratamento de Leishmaniose Visceral Canina, em uma cadela da raça Labrador, descrevendo o acompanhamento do caso, o monitoramento da evolução por meio dos exames relacionados, além de especificar a conduta clínica adotada.

RELATO DO CASO

Foi atendida em uma clínica particular uma cadela de dois anos de idade, da raça Labrador, pelagem curta, de cor chocolate, pesando 30 kg. O animal é oriundo da região urbana de Santarém (PA) e a queixa principal era de lesão de pele na região dos olhos e membros. Na anamnese, foi relatado que a paciente fez tratamento de demodicose e estava com vermifugação e vacinas polivalente viral e antirrábica em dia. O controle de ectoparasitas era mantido com comprimidos mastigáveis à base de fluralaner. Foi relatado também que o animal apresentou hemoptise, porém sem informação precisa de quando ocorreu, qual a quantidade e o aspecto.

No exame físico, foi observada uma lesão cutânea de aspecto contaminado, com secreção sero-sanguinolenta, em região periocular bilateral, bem como em região de metacarpos, metatarsos e cotovelos, além de descamação seborreica generalizada. As mucosas apresentavam-se rosadas, frequência cardíaca e respiratória normais, tempo de preenchimento capilar menor que 3 segundos. O animal estava em bom estado nutricional e, durante a palpação, verificou-se o aumento dos linfonodos retromandibulares.

Foram solicitados hemograma completo, ALT (Alanina aminotransferase), proteínas totais, albumina e globulina. Foi realizado o teste rápido para Leishmaniose (Alere®), que indicou resultado positivo. Para confirmação, foi feito o PCR com sangue total, que também deu positivo para complexo *Leishmania*.

O tratamento teve duas fases. Na fase inicial, utilizou-se alopurinol 10 mg/kg, uma vez ao dia, durante 30 dias (Zyloric® 300 mg); além de suplemento alimentar à base de vitaminas e aminoácidos, probiótico e prebiótico (Promun Dog®), duas vezes ao dia, durante 60 dias; suplemento contendo ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais (Pelo e Derme Gold®), duas vezes ao dia, durante 60 dias, e Silimarina (hepatoprotetor) 20 mg/kg (Legalon® 90 mg), duas vezes ao dia, durante 60 dias. No

28º dia da fase inicial, iniciou-se a segunda fase do tratamento com Miltefosina 2mg/kg, uma vez ao dia, durante 28 dias (Milteforan® 20mg/ml) e manteve-se o tratamento de suporte. No 10º dia após o início do Milteforan, o animal apresentou êmese. Foi recomendada a administração de Dimenidrinato 4 mg/kg (Dramin® 100 mg), uma hora antes da alimentação. Recomendou-se que o Milteforan fosse administrado após a alimentação.

Após o término do tratamento, foi realizado novamente um hemograma completo, ALT, proteínas totais e frações. Realizou-se a coleta de sangue para o teste de PCR. Foi realizada uma reavaliação clínica com o retorno do animal no dia 07/11/2018 e coleta de sangue para PCR. Os valores hematológicos e bioquímicos dos exames realizados antes e após o tratamento são apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

O eritrograma revelou que, antes do tratamento, o animal apresentava uma anemia discreta, retornando a valores normais logo após o término do mesmo. O leucograma, antes do tratamento, apresentou valores normais de leucócitos, apenas com um aumento discreto de neutrófilos da contagem relativa. Já após o tratamento, foi observada uma discreta leucocitose. A avaliação bioquímica demonstrou um discreto aumento nas proteínas totais, após o tratamento, sem alterações de ALT.

A avaliação clínica, após o tratamento, revelou que o animal não apresentava mais os sinais clínicos. Os exames PCR, realizados tanto imediatamente após o tratamento quanto oito meses após, não detectam a presença de DNA do parasita nas amostras, tendo como resultado negativo. O animal iniciou então o protocolo vacinal com Leishtec e continuará com acompanhamento periódico durante pelo menos cinco anos, como recomenda a portaria da Anvisa (BRASIL, 2018).

Série Vermelha	Antes do Tratamento (23/11/2017)	Após o Tratamento (11/01/2018)	Referência
Hemácias	4,72 milh/mm ³	5,28 milh/mm ³	5,5 a 8,0
Hemoglobina	10,9 g/dL	12,7 g/dL	12,0 a 18,0
Hematócrito	29.1%	38,5%	37,0 a 5,0
V.C.M	62 fL	73 fL	60 a 77
H.C.M	23,1pg	24,1pg	19,5 a 24,5
C.H.C.M	37,5 g/dL	33,0 g/dL	30,0 a 36,0
R.D.W	14,3%	14,7%	12,0 a 15,0

Série Branca	Antes Do Tratamento (23/11/2017)		Após O Tratamento (11/01/2018)		Referência	
	%	(/mm ³)	%	(/mm ³)	%	(/mm ³)
Leucócitos		16.4000		18.500		6.000 a 17.000
Bastonetes	0	0	0	0	0 a 2	0 a 300
Segmentados	82	13.448	64	11.840	60 a 70	3.000 a 11.500
Eosinófilos	1	164	1	185	2 a 10	120 a 1.250
Basófilos	0	0	0	0	0 a 1	0 a 170
Linfócitos	14	2.269	32	5.920	12 a 30	1.000 a 4.800
Linfócitos atípicos	0	0	0	0	0	0
Monócito	3	492	3	555	1 a 10	150 a 1.350
Plaquetas		200.000		218.000		200 a 500000

Tabela 1. Hemograma completo realizado antes e após o tratamento à base de miltefosina em paciente canino.

Parâmetro	Resultado		Referência
	Antes do tratamento (23/11/2017)	Após o tratamento (11/01/2018)	
ALT	80U/L	29U/L	10 A 88 U/L
Prot. Totais	7,7g/dL	8,0 g/Dl	5,4 a 7,7 g/dL
Albumina	3,1g/dL	2,7 g/Dl	2,3 a 3,8 g/dL
Globulina	4,6g/dL	5,3 g/Dl	2,3 a 5,2 g/dL

Tabela 2. ALT, Proteínas totais e Albumina dosadas em paciente canino realizados antes e após o tratamento à base de miltefosina

DISCUSSÃO

Na leishmaniose visceral canina, a anemia é uma alteração hematológica frequente como foi visto no cão deste relato (BRAZ et al., 2015; SÁ; LEITE, 2013). Tal anemia é causada por eventos multifatoriais, sendo eles sequestro esplênico, destruição de eritrócitos, bloqueio de produção na medula, hemorragia, hemólise, mecanismos imunes e infecções simultâneas (por exemplo parasitoses intestinais) e também carência nutricional (deficiência de ferro, ácido fólico e vitamina B12) (MOREIRA, 2012). Dessa maneira, foram utilizados suplementos que auxiliaram na recuperação do animal.

O discreto aumento nos leucócitos observadas no leucograma demonstra uma alteração sem grande relevância clínica, haja vista ser compatível com leucograma de estresse. Quando o animal é levado do ambiente familiar para um consultório veterinário, onde há pessoas diferentes, além de outros animais e de cheiros diferentes, é comum estresse emocional. Quando esse estresse é acompanhado pela liberação de glicocorticoides endógenos, podem ocorrer alterações no leucograma, como por exemplo uma neutrofilia causada pela demarginação endotelial dos neutrófilos (SILVA et al., 2008).

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima hepato-específica que está presente no citoplasma dos hepatócitos. O aumento da quantidade sérica da mesma demonstra uma lesão celular, liberando-a para a corrente sanguínea (ROBINS, 2007). Diante disso, foi realizado o teste de ALT para detectar se o fígado do animal apresentava lesão, uma vez que a hepatomegalia é sinal característico e comum da doença (CONTRERAS et al., 2019) No animal objeto deste relato, não houve indícios de lesão hepática antes ou após o tratamento.

Em um estudo foram avaliados 40 cães sororreagentes, divididos em três grupos: sintomático, assintomático e oligonssintomático. O valor da albumina variou entre os grupos, porém, no grupo sintomático, os níveis séricos da mesma estavam abaixo do normal. Ao contrário da globulina, que se encontrava aumentada em todos os grupos (CASTRO, 2012). Os níveis de proteínas totais, geralmente, encontram-se aumentados em casos de leishmaniose visceral canina, podendo atingir valores acima de 10g/dL, principalmente devido ao aumento de β e γ -globulina (CIARAMELLA; CORONA, 2003). Já neste paciente, os resultados de albumina e globulina se

encontravam dentro do valor de referência. O fato de não ter sido observado alterações nas proteínas plasmática pode ser atribuído ao fato de o animal não ter apresentado comprometimento hepático.

A hiperproteinemia, que comumente se faz presente em animais com LV, pode ocorrer em função do aumento da quantidade de linfócitos B e, consequentemente, o número de anticorpos no organismo, explicando, assim, o aumento dos valores de proteínas plasmáticas totais, mesmo em casos de hipoalbuminemia (FELDMAN et al., 2000; IKEDA et al., 2003). Observa-se, então, que a hiperproteinemia e a hipergamaglobulinemia são achados frequentes em animais infectados com a *Leishmania spp* (REIS et al, 2006). Contudo, no caso relatado, embora tenha sido evidenciado um aumento discreto de proteínas após o tratamento, não foi constatada hiperproteinemia e hipergamaglobulinemia. Este fato é compreensível, uma vez que a resposta imune varia de organismo para organismo. Sendo assim, pode-se presumir que embora tenha tido a produção de anticorpos, visto que foi positivo no teste de triagem rápida, a quantidade desses anticorpos não foi suficiente para refletir em uma hipergamaglobulinemia.

De acordo com o fabricante, a utilização da Miltefosina é eficiente na cura clínica de cães acometido por leishmaniose visceral (VIRBAC, 2017). Com a utilização do medicamento, o animal apresenta uma significativa redução da carga parasitária no organismo. O medicamento não é hepatotóxico, devido à metabolização lenta (ALBUQUERQUE; LONGUINE, 2018).

Segundo o Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2017), não existe cura parasitológica estéril, o que existe é uma diminuição da carga parasitária no organismo do animal, resultando, assim, na diminuição do potencial de infecção do flebotomíneo e na transmissão da doença.

Os resultados negativos no exame de PCR indicam a ausência de *Leishmania* circulante, porém não permitem afirmar que houve cura parasitológica, uma vez que o protozoário pode permanecer em tecidos linfóides do animal, haja vista que são parasitas de células do sistema mononuclear fagocitário (MARQUES, 2008).

Por haver apenas cura clínica, o animal necessita de acompanhamento veterinário periódico para a realização de uma nova avaliação clínica, laboratorial e parasitológica, e, caso seja necessário, iniciar um novo ciclo de tratamento

Concluiu-se que o cálice de *Hibiscus sabdariffa* L (hibisco) possui altos teores de cinzas totais, carboidratos, fenólicos totais e atividade antioxidante, bem como baixos teores de lipídeos e proteínas. Assim, os valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante aliados à composição centesimal reforçam a proposta de utilização dos cálices de hibisco como matéria-prima para a elaboração de novos produtos e estimulam a realização de mais estudos *in vitro* e *in vivo* para comprovar seu potencial benéfico à saúde.

CONCLUSÃO

O tratamento realizado com miltefosina demonstrou-se eficaz, promovendo a cura clínica, já que todos os sinais desapareceram, promovendo ainda a eliminação de parasitas circulantes, comprovada por dois PCR negativos consecutivos. Contudo, vale ressaltar que não é possível

afirmar que houve cura parasitológica, sendo necessário acompanhamento periódico do animal em questão.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A.L.H.; LANGONI, H. A prática do tratamento na leishmaniose visceral canina (LVC) em clínicas veterinárias, cuidados e protocolos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 132-141, 2018.
- ÁVILA, M.M. **Aspectos da fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) e da infecção por Leishmania spp. em cães domésticos em uma área de alta incidência de Leishmaniose Tegumentar em Rio Branco, Acre. 2018.** 100 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio Branco, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.** Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Ministério da Saúde. **Registro do produto de uso veterinário denominado Milteforan 2% solução oral para cães.** Nota técnica
- BRAZ, P.H.; SARTORETTO, M.C.; SOUZA, A.S.; MELO, F.M.G.; Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *leishmania* spp. **Acta Veterinária Brasília**, v.9, n.1, p.87-90, 2015.
- CASTRO, I.P.; MAGALHÃES, G.M.; MEDEIROS, A.A.; MUNDIM, A.V.; NETO, A. A.P.; NOLETO, P.G.; PAULA, M.B.C.; SOUSA, M.V.C. Perfil hepático e proteico em cães com leishmaniose visceral. **Bioscience Journal Uberlândia**, v.28, n.5, p.799-804, 2012.
- CFMV, Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Perguntas e respostas sobre leishmaniose visceral canina (LVC), questões técnicas e legais.** Disponível em: <[http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/07_11_2017_Perguntas%20e%20Respostas%20LVC_%20Atualizaçã%201\(1\).pdf](http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/07_11_2017_Perguntas%20e%20Respostas%20LVC_%20Atualizaçã%201(1).pdf)>. Acessado em: 15 jan. 2018.
- CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Trenton, v. 25, n. 5, p. 358-368, 2003.
- CONTRERAS, I.K.; Machado, M.A.; Rocha, C.O.J.M.; Oliveira, G.R.; Carvalho, F.C.G. Sinais clínicos apresentados por cães positivos para leishmaniose visceral no município de Vassouras. **PUBVET** v.13, n.4, p.1-6, 2019.
- FREITAS, M.V.M.; BRUN, C.F.L.; RODRIGUES, M.C.; ALVES, G.B.B.; LEAL, A.F.; SILVA, E.M.C.; GROLLI, L.; QUESSADA, A.M. \$, v. 47, n.10, 2017.
- IKEDA F.A.; CIARLINI, P.C.; FEITOSA, M.M.; GONÇALVES, M.E.; LUVIZOTTO, M.C.R.; LIMA, V.M.F. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba, São Paulo: estudo retrospectivo de 191 casos. **Clínica Veterinária**, v.47, p.42-47, 2003.
- FELDMAN, B.V.; JAIN, N.C.; ZINKL, J.G. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders. In: JAIN, N.C.; ZINKL, J.G. **Schalm's Veterinary Hematology**. Canada, v. 2000, p. 940-1002
- LAPPIN, M.R.; COUTO, G. Infectious diseases. In: NELSON, R. W. **Small animal internal medicine**. 4. ed. New York: Elsevier, 2009. P.1281-1389.
- MACHADO, C.P.S.; SILVA, E.G.; VILANI, R.M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. **Saúde e Sociedade**, v. 25, n. 1, p.247-258, 2016.
- MAGALHÃES, N.A.; PINHO, F.A.; OLIVEIRA, F.L.; SILVA, K.R.; COSTA, F.A.L. Classificação das alterações pulmonares na leishmaniose visceral canina. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. v. 23, n. 1-2, p. 60-65, 2016.
- MARQUES, I. L. M. M. **Leishmaniose canina.** 2008. 131f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.
- MOREIRA, E.A. **Aspectos hematológicos de pacientes com leishmaniose visceral.** São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia, 2012.
- REIS, A.B; CARVALHO, M.G.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; FRANÇA-SILVA, J.C.; GENARO, O.; GIUNCHETTI, R.C.; MARTINS-FILHO, O.A.; MAYRINK, W.; TEIXEIRA-CARVALHO, A. Parasite density and impaired biochemical/ hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**, v. 81, n. 1, p. 68-75, 2006.
- SA, G.J.D. L.; LEITE, A. K. R. M. Achados laboratoriais em cães soropositivos para leishmaniose na cidade de Sobral, Ceará. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 20, 2013.
- SHERDING, R.G. Toxoplasmosis and other systemic protozoal infections. In: **Saunders manual of small animal practice**. 3. ed. St Louis, Saunders Elsevier, 2006. P. 219-230.
- SILVA, R.; ALMEIDA JÚNIOR, G.S.; CURY, J.R.M.; AMARAL, J.B.; PERENHA, R. A.; LOCATELLI, L.; MATIAS, V.; SACCO, S. R. Leucograma de estresse. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n 11, 2008.
- RIBEIRO, J.B.P.; MIRANDA-VILELA, A.L.; GRAZIANI, D.; GOMES, M.R. A.; AMORIM, A.A.R.; GARCIA, R.D.; SOUZA FILHO, J.; TEDESCO, A.C.; LUCAS PRIMO, F.; MOREIRA, J.R.; LIMA, A.V.; SAMPAIO, R.N.R. Evaluation of the efficacy of systemic miltefosine associated with photodynamic therapy with liposomal chloroaluminium phthalocyanine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (L.) amazonensis* in C57BL/6 mice. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 13, p. 282-290, 2016.
- ROBINS, W.A. Avaliação laboratorial da função hepática. In: THRALL, M. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Rocca, 2007. P. 853-903.
- VIRBAC. **Boletim técnico.** Milteforan - O único produto aprovado para tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil, 2017.