



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Kleyton Vinícius Rodrigues Freire

**DIAGNÓSTICO E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR CANINA NO BRASIL: Uma revisão sistemática e metanálise**

Florianópolis
2022

Kleyton Vinícius Rodrigues Freire

**DIAGNÓSTICO E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR CANINA NO BRASIL: Uma revisão sistemática e metanálise**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Mestre em Farmácia.
Orientador: Prof^ª. Izabel Galhardo Demarchi, Dra.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Freire, Kleyton Vinícius Rodrigues

Diagnóstico e fatores de risco associados a leishmaniose tegumentar canina no Brasil : Uma revisão sistemática e metanálise / Kleyton Vinícius Rodrigues Freire ; orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, 2022.

83 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Leishmaniose cutânea. 3. Brasil. 4. Cães. 5. Metanálise. I. Demarchi, Izabel Galhardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Farmácia. III. Título.

Kleyton Vinícius Rodrigues Freire

**DIAGNÓSTICO E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR CANINA NO BRASIL: Uma revisão sistemática e metanálise**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Thaís Cristine Marques Sincero, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª. Taisa Navasconi Berbert, Dra.
Centro Universitário Integrado de Campo Mourão

Prof^ª. Ziliani da Silva Buss, Dra. (suplente)
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmácia.

Prof. Thaís Cristine Marques Sincero, Dra.
Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Farmácia

Prof. Izabel Galhardo Demarchi, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 22 de julho de 2022.

Dedico este trabalho à minha querida vovó “Zezita” (*in memoriam*) por todo amor, estímulo e vibração com as minhas vitórias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primordialmente a Deus, digno de toda primazia da minha vida, por sua graça incontestável que me sustenta, por sua fidelidade, providência e olhar de amor que sempre estiveram presentes em todos os instantes de minha existência.

A elaboração deste trabalho também foi fruto da participação daqueles que sempre de alguma forma colaboraram pacientemente e acreditaram na conquista de mais uma batalha; sendo assim, agradeço:

À minha orientadora de mestrado, Profa. Dra. Izabel Galhardo Demarchi, a minha eterna gratidão pela oportunidade concedida, pela amizade, carinho e pela colaboração no meu crescimento profissional, acadêmico e como pessoa, não possuo palavras para demonstrar a minha gratidão;

Aos meus pais e meu irmão por acreditarem em mim e terem me dado a oportunidade de chegar até aqui. O amor gratuito de vocês me sustenta cada dia;

Ao Laboratório de Pesquisa em Imunologia de modo especial ao Prof. Dr. Eduardo Monguilhott Dalmarco, por todo o apoio na realização deste trabalho.

Aos que participaram deste trabalho, Bárbara Breger Alves, Jéssica Pereira Florindo, Maria Valdrinez Campana Lonardoní, Jorge Juarez Vieira Teixeira, Beatriz Garcia Mendes Borba; Ziliani da Silva Buss; Iara Fabricia Kretzer; Tainá Larissa Lubschinski; Eduarda Talita Bramorski Mohr.

Agradeço à UFSC e ao PGFAR, pela infraestrutura, apoio técnico e administrativo. Sou grata a agência de fomento (CAPES) – Agência de Fomento do Ministério da Educação.

Educação é uma descoberta progressiva de nossa própria ignorância.

(Voltaire)

RESUMO

A leishmaniose canina é um problema de saúde pública no Brasil, com alta prevalência e risco de transmissão da doença para humanos. Esta revisão sistemática e metanálise avaliou a prevalência e distribuição da leishmaniose tegumentar canina (LTCan) no Brasil. Este estudo foi registrado na PROSPERO (CRD42021262437). De acordo com a recomendação do PRISMA, construímos a questão PICOS: Qual o perfil epidemiológico da LTCan no Brasil? Para isso, cinco bancos de dados e uma literatura cinzenta foram pesquisadas para a busca de artigos originais publicados até 2021. Dois revisores cegos conduziram a seleção dos estudos seguindo rigorosos critérios de inclusão e exclusão. Um revisor especialista no tópico resolveu as discrepâncias. O risco de viés foi avaliado usando a ferramenta Rob do SYRCLE. A metanálise foi realizada no Stata 14. Um total de 656 estudos foram recuperados, e foram removidas as duplicatas (189). Selecionamos 116 estudos após a leitura do resumo e do título. Após a leitura do texto completo, incluímos 59 artigos originais. Todas as regiões do Brasil apresentaram casos de LTCan, principalmente cães peridomiciliares e domésticos. A reação em cadeia da polimerase (PCR) com alvo no kDNA de *Leishmania* (sangue e lesão) e a sorologia por imunofluorescência indireta (IFI) foram os métodos mais utilizados. Além disso, *Leishmania (Viannia) braziliensis* foi a espécie relacionada mais prevalente. A maioria dos estudos destacou a possibilidade de um papel importante na cadeia de transmissão de *L. braziliensis* de cães para humanos. Considerando o teste IFI, a prevalência de LTCan agrupada foi de 10%, ELISA (15%), PCR no sangue (19%), PCR em lesão de pele (56%) e pesquisa direta do parasito na lesão (21%) ($I^2 > 90\%$, $p < 0,001$). As regiões Nordeste, Sudeste e Sul foram as áreas com maior prevalência de LTCan. Considerando a alta prevalência da doença em cães e o risco de transmissão humana, sugerimos que sejam adotadas medidas de controle e manejo da leishmaniose canina em todo o território nacional.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea. Brasil. Cães. Metanálise.

ABSTRACT

Canine leishmaniasis is a public health problem in Brazil since higher prevalence and transmission risk for humans. This systematic review and meta-analysis evaluated the prevalence and distribution of canine tegumentary leishmaniasis (CanTL) in Brazil. This study was registered in PROSPERO (CRD42021262437), and it is in progress. According to the PRISMA recommendation, we constructed the PICOS question: What is the epidemiology profile of CanTL in Brazil? Five databases and one grey literature were searched for original articles published until 2021. Two blinded reviewers conducted the study selection following rigorous inclusion and exclusion criteria. A topic expert reviewer solved the discrepancies. The risk of bias was evaluated using SYRCLE's Rob tool. The meta-analysis was conducted in Stata 14. A total of 656 studies were recovered, removing duplicates (189). We selected 116 studies after abstract and title reading. After full-text reading, we included 59 original articles. All regions of Brazil have reported cases of canine leishmaniasis, mainly in peri domicile and domestic dogs. The polymerase chain reaction (PCR) targeting kDNA of parasites and serology by indirect immunofluorescence were the most used methods. Also, *Leishmania (Viannia) braziliensis* was the most prevalent species related. The majority of studies highlighted the possibility of an important role in the transmission chain of *L. braziliensis* from dogs to humans. Considering IIF test, the CanTL prevalence pooled was 10%, ELISA (15%), PCR in blood (19%), PCR in skin lesion (56%) and direct parasite search (21%) ($I^2 > 90\%$, $p < 0.001$). Northeast, Southeast, and Southern were the most prevalent CanTL areas. Considering the high prevalence of the disease in dogs and possibility of human transmission, we suggest that control measures and canine leishmaniasis throughout the national territory are at risk.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis. Disease reservoirs. Brazil. Dogs. Meta-analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo evolutivo da leishmaniose tegumentar americana.....	15
Figura 2 - Cão com lesão de focinho	16
Figura 3 - Endemicidade da leishmaniose cutânea no mundo em 2020	17
Figura 4 - Número de novos casos autóctones de leishmaniose cutânea (LC) reportados por continente e ano de detecção (1998-2020).....	17
Figura 5 - Fêmea de flebotomíneo (Diptera: Psychodidae)	21
Figura 6 - Manifestações clínicas de cães naturalmente infectados com <i>Leishmania (Leishmania) infantum</i> : (a) cão assintomático (aparentemente saudável, mas infectado); (b) alopecia não pruriginosa generalizada e múltiplas outras anormalidades dermatológicas; (c)	22
Figura 7 - Esquema da estrutura do minicírculo de <i>Leishmania</i> (cinetoplasto) Erro! Indicador não definido.	
Figura 8 - Imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> sp	26
Figura 9 - Pirâmide da medicina baseada em evidências. A pirâmide revisada: as revisões sistemáticas são uma lente através da qual a evidência é vista (aplicada)	29
Figura 10 - Interpretação dos dados no Gráfico de floresta (dados fictícios em percentual)	39
Figura 11 - Fluxograma PRISMA da identificação dos estudos incluídos nesta revisão sistemática	39
Figura 12 – Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina pelo teste de imunofluorescência indireta (IIF) de acordo com a região brasileira (efeitos aleatórios)	54
Figura 13 - Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina por ensaio imunoenzimático (ELISA) e busca direta do parasita no tecido da lesão segundo a região brasileira (efeitos aleatórios)	56
Figura 14 - Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina aplicando a reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue (A) e lesões (B), de acordo com a região brasileira (efeitos aleatórios)	58
Figura 15 - Gráfico de funil com contorno aprimorado da prevalência da leishmaniose tegumentar canina de acordo com métodos laboratoriais	60

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Resumo dos resultados dos estudos incluído(n=59).....	19
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FITC	Fluoresceína-5-isotiocianato
FML	Fucose-manose ligante
HSP70	<i>70 kilodalton heat shock proteins</i>
ICC	Imunocomplexos Circulantes
IFI	Imunofluorescência Indireta
IN	Instrução Normativa
ITS1	<i>Internal Transcribed Spacer 1</i>
kDNA	DNA do cinetoplasto
LACEN	Laboratórios Centrais
LC	Leishmaniose Cutânea
LCan	Leishmaniose Canina
LILACS	Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTCan	Leishmaniose Canina
LV	Leishmaniose Visceral
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
NNN	Meio de cultura de Novy, Nicolle e McNeal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação de Polimerase em Cadeia
RNA	Ácido ribonucleico
RS	Revisão Sistemática
rRNA	RNA ribossomal
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SSU	<i>Small Subunit</i>
SVS-MS	Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde
UVL	Unidades Veterinárias Locais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	RECOMENDAÇÕES DE USO	15
1.2	HOSPEDEIRO INVERTEBRADO	20
1.3	HOSPEDEIROS VERTEBRADOS	21
1.4	DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE	23
1.4.1	Diagnóstico Clínico	23
1.4.2	Exames parasitológicos.....	23
1.4.3	Exames moleculares.....	24
1.4.4	Sorologia por imunofluorescência indireta (IFI).....	25
1.4.5	Limitação do diagnóstico laboratorial	26
1.5	TRATAMENTO E VACINAS	26
1.6	MEDIDAS PROFILÁTICAS.....	27
1.7	REVISÕES SISTEMÁTICAS E META-ANÁLISE	28
1.8	OBJETIVOS.....	33
1.8.1	Objetivo Geral.....	33
1.8.2	Objetivos Específicos	34
2	DESENVOLVIMENTO	35
2.1	DESENHO DO ESTUDO.....	35
2.2	ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	35
2.3	SELEÇÃO DOS ESTUDOS	36
2.3.1	Critérios de inclusão	36
2.3.2	Critérios de exclusão.....	37
2.4	EXTRAÇÃO DE DADOS	37
2.5	ANÁLISE DO RISCO DE VIÉS	38
2.6	SÍNTESE QUALITATIVA E METANÁLISE.....	38

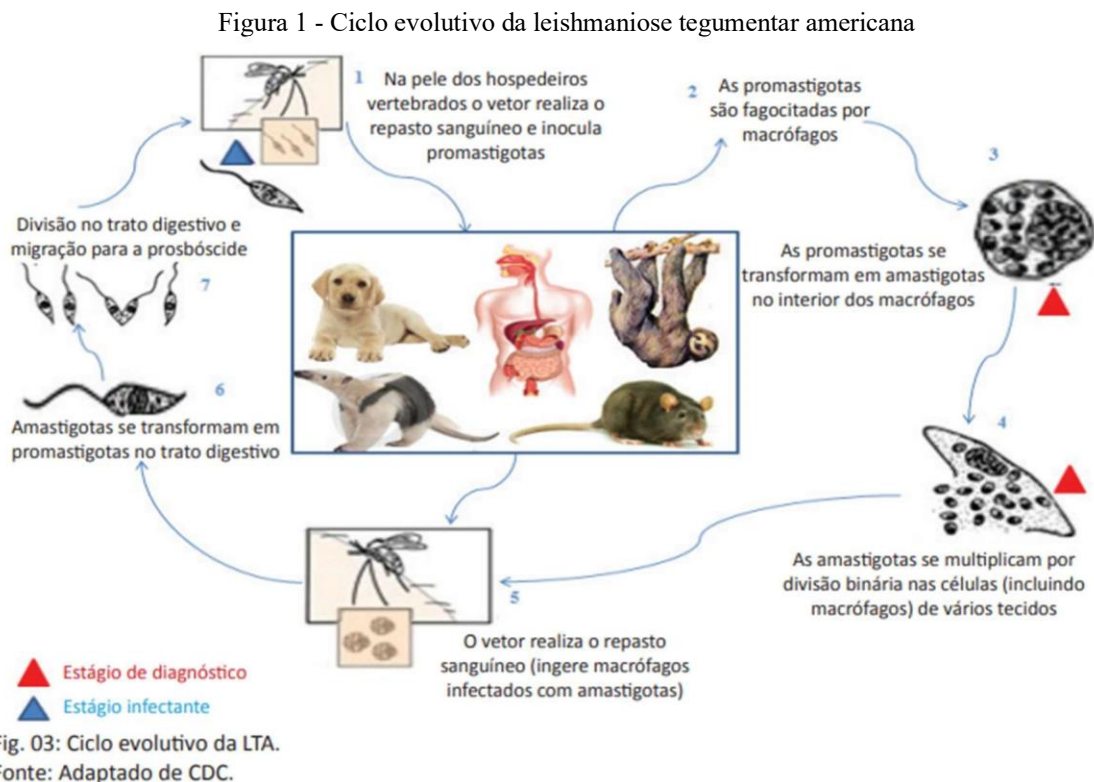
SUMÁRIO

3.1	METANÁLISE.....	52
3.2	RISCO DE VIÉS	61
3.3	DISCUSSÃO.....	61
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
4.1	FINANCIAMENTO	67
4.2	CONTRIBUIÇÕES	67
	REFERÊNCIAS.....	68
	APÊNDICE A – DESCRIÇÃO.....	82
	APÊNDICE B – TABELA DE ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 RECOMENDAÇÕES DE USO

As leishmanioses são antroponozoonoses causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que acometem pele, mucosas e vísceras de mamíferos (OMS, 2022). As leishmanioses têm como hospedeiro intermediário os flebotomíneos, que a partir da picada na pele transmite o parasito (forma promastigota) para os mamíferos (Figura 1). No hospedeiro, as formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema mono e polimorfonuclear, no qual se transformam em amastigotas. Essa forma do parasito se multiplica por divisão binária até a lise da célula, podendo infectar as células adjacentes. No local da picada, ocorre uma reação imune e inflamatória que leva ao aparecimento de uma lesão (Figura 1) (CDC, 2020).



Fonte: CRMV/PR (2015).

A leishmaniose é considerada uma doença negligenciada e está amplamente distribuída ao redor do mundo (OMS, 2022). De uma maneira geral, esta doença pode ser classificada em duas formas principais: leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT) (OMS, 2021). A LT é uma doença infecciosa, não contagiosa, caracterizada por lesões na

pele e mucosas (JERÔNIMO et al., 1994; OMS, 2010), estas lesões podem apresentar resolução espontânea ou, em alguns casos, levam ao desenvolvimento de lesões metastáticas (COSTA et al., 2018) (Figura 2). A LV é uma doença infecciosa sistêmica, caracterizada por febre de longa duração, aumento do fígado e baço, perda de peso, fraqueza, redução da força muscular, anemia e outras manifestações (RAIMUNDO et al., 2022; PICCICA et al., 2021; VASCONCELOS et al., 2019). A LV acomete órgãos/vísceras como baço e fígado, é a forma mais agressiva e letal de leishmaniose. A LT e LV se manifestam em cães e representam um grande problema de saúde pública em países endêmicos, como o Brasil (CASTRO et al., 2022).

Figura 2 - Cão com lesão de focinho

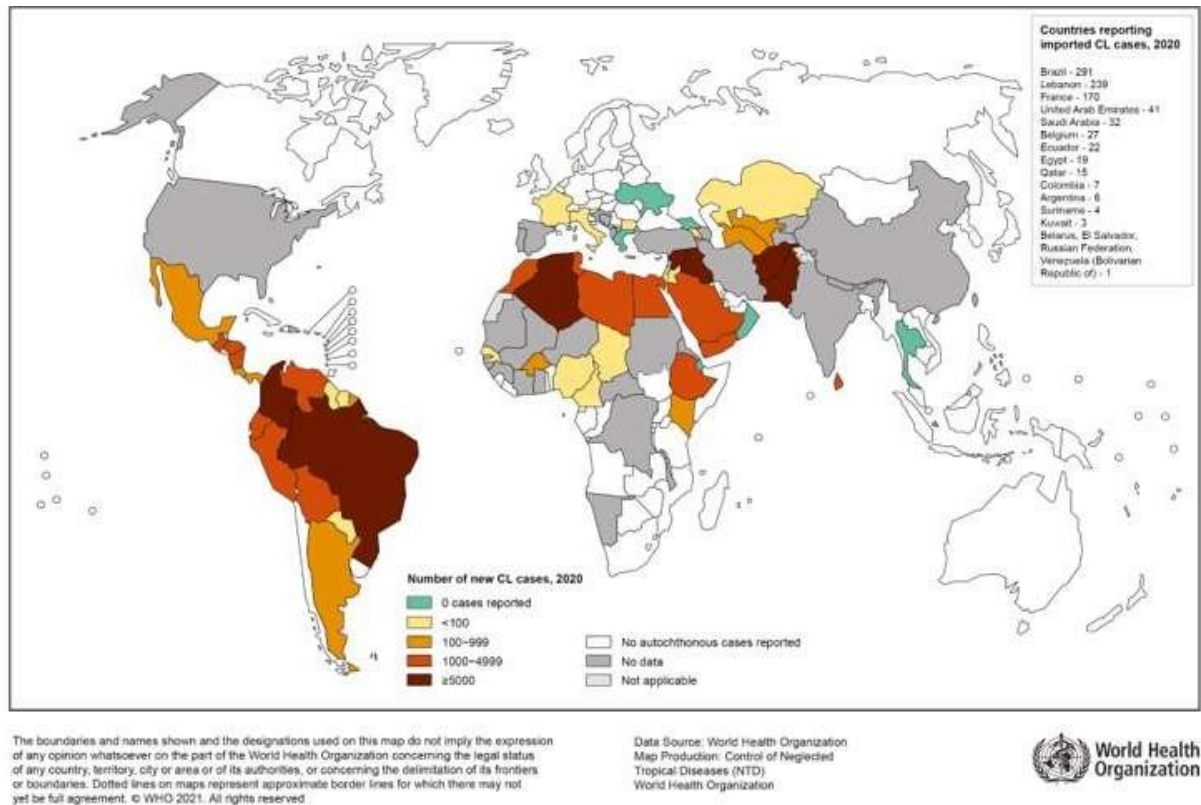


Fonte: Brasil (2017).

A incidência da LT humana é estimada em um milhão de novos casos em todo o mundo, distribuídos em 106 países nos cinco continentes (OMS, 2020) (Figura 3). A maior prevalência da doença ocorre em países em desenvolvimento e áreas tropicais, como Brasil, Afeganistão, Irã, Iraque e Síria. O clima e a umidade desses locais favorecem o desenvolvimento do vetor e albergam os hospedeiros da doença. Em 10 de agosto de 2021, 56 dos 89 países (63%) endêmicos para LT relataram dados referentes ao ano de 2020 para a Organização Mundial da Saúde (OMS), 208.357 novos casos de LT (207.477 casos autóctones e 880 importados) (OMS, 2022). A LT apresenta um amplo espectro de manifestações clínicas

causadas por uma diversidade de espécies de *Leishmania* e dependente da resposta imune do hospedeiro. Os principais agentes etiológicos nas Américas (Novo Mundo) são: *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis* (PEARSON; SOUZA, 1996).

Figura 3 - Endemicidade da leishmaniose cutânea no mundo em 2020



Fonte: Organização Mundial da Saúde (2020).

Os casos de LT no Brasil apresentam uma predominância de registros totais na região norte (41,82% do total de casos), seguida pela região nordeste, totalizando juntas mais de 70% dos casos (BRASIL, 2017). Os dados disponíveis sobre LT não são fidedignos e muito provavelmente estão aquém do real, embora tenham sido feitas várias estimativas (MEDRONHO et al, 2009). Vários estudos brasileiros apontam para a ocorrência de LT e seus vetores em todo o território brasileiro (BRILHANTE et al., 2019; BRANDÃO-FILHO et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2016; PAZ et al., 2018; QUARESMA et al., 2011). Deve-se salientar que a ocorrência do perfil periurbano de transmissão, está relacionada com a falta de saneamento básico, a situação econômica precária, a migração da população para as periferias das cidades, aos materiais de construção inadequados e ao convívio com animais ermos ou mesmo domesticados que servem de novos reservatórios da doença, aliados ao aumento da

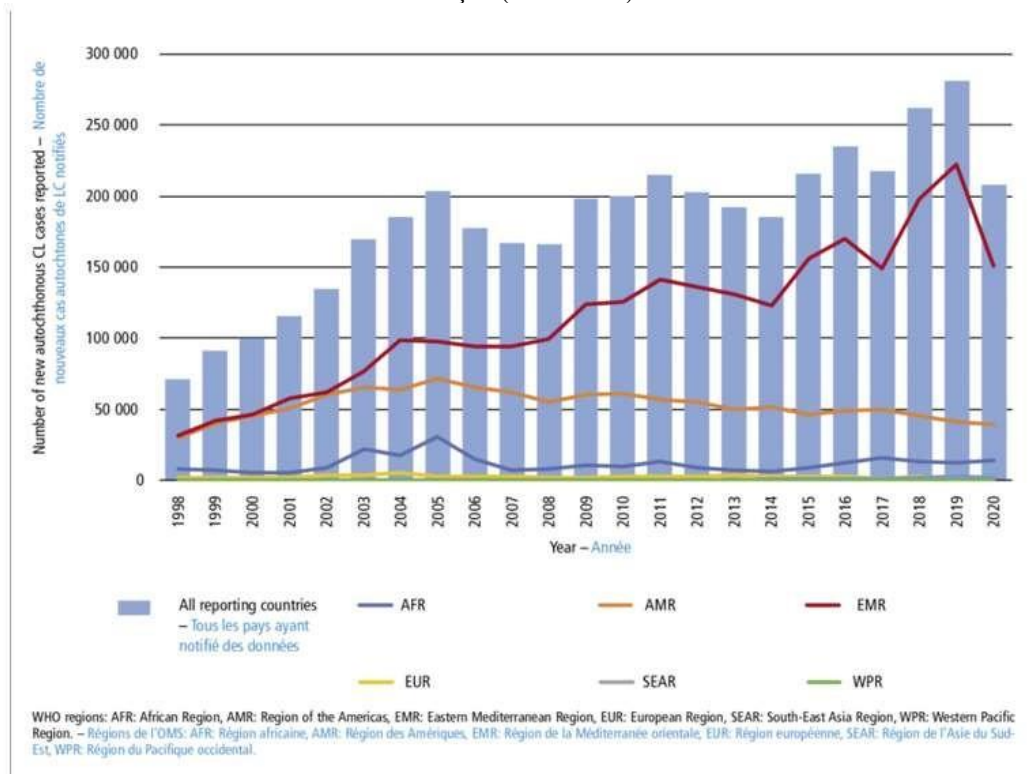
população de roedores que se concentram nas áreas com resíduos produzidos pelo homem (SILVA; ANTUNES; FRAZÃO, 2021).

No Brasil, nas últimas décadas, as análises epidemiológicas da LT indicam mudanças no padrão de transmissão da doença, caracterizada anteriormente com uma zoonose de animais silvestres, atingindo ocasionalmente pessoas em contato com as florestas. Posteriormente, a doença começou a surgir em zonas rurais e em regiões periurbanas. O perfil epidemiológico pode ser classificado em três: a) Silvestre – em que ocorre a transmissão em áreas de vegetação primária; b) Ocupacional ou de lazer – em que a transmissão está associada à exploração desordenada da floresta e derrubada de matas para a construção; e c) Rural ou periurbana – áreas periurbana, em que houve adaptação do vetor ao peridomicílio (SILVEIRA; LAINSON; CORBETT, 2004).

As condições sanitárias inadequadas representam um importante fator de agravamento de doenças parasitárias na saúde pública (STARLING; AMORIM; LEÃO, 20219). Neste contexto, o difícil acesso aos serviços de saneamento básico têm impacto na saúde da população, uma vez que regiões deficientes de instalações sanitárias geram condições propícias para proliferação de inúmeras doenças infecto parasitárias (ARAUJO et al., 2022).

A nível global, houve uma tendência geral de aumento na o número de novos casos de LT autóctones notificados anualmente à OMS entre 1998 e 2019 e uma forte diminuir entre 2019 e 2020, de 251 553 para 207 477 casos (Figura 4). Os resultados abaixo foram calculados para os novos casos autóctones, excluindo os que foram casos importados e reincidentes.

Figura 4 - Número de novos casos autóctones de leishmaniose cutânea (LC) reportados por continente e ano de detecção (1998-2020).



Fonte: Ruiz-Postigo et al. (2021).

No Brasil, a LT humana e canina é uma doença de notificação compulsória, em que todo caso confirmado deve ser notificado e investigado pelos serviços de saúde, por meio da ficha de investigação padronizada pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e Secretaria Estadual de Saúde. A notificação da leishmaniose canina é determinada na Instrução Normativa (IN) nº 50 de 2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essa IN orienta que o médico veterinário deve realizar a notificação quando suspeitar ou diagnosticar casos de LT e ou LV para as Unidades Veterinárias Locais (UVL). É necessário que os médicos veterinários estejam atentos para o diagnóstico da doença, uma vez que a subnotificação é frequente. Estudos apontam que o banco de dados da área de saúde apresenta limitações e necessita de aperfeiçoamentos tecnológicos para melhor se aferir as informações desejadas (MAIA-ELKHOURY et al., 2007).

O tratamento de LT e LV é baseado no uso de antimoniais pentavalentes e é recomendado para casos humanos e não para leishmaniose canina (BRASIL, 2017). Atualmente, existe uma vacina para a profilaxia da leishmaniose visceral canina em comercialização no Brasil, Leishmune®. Os resultados do estudo apresentado pelo laboratório produtor da vacina atendeu às exigências da Instrução Normativa Interministerial nº 31 de 09

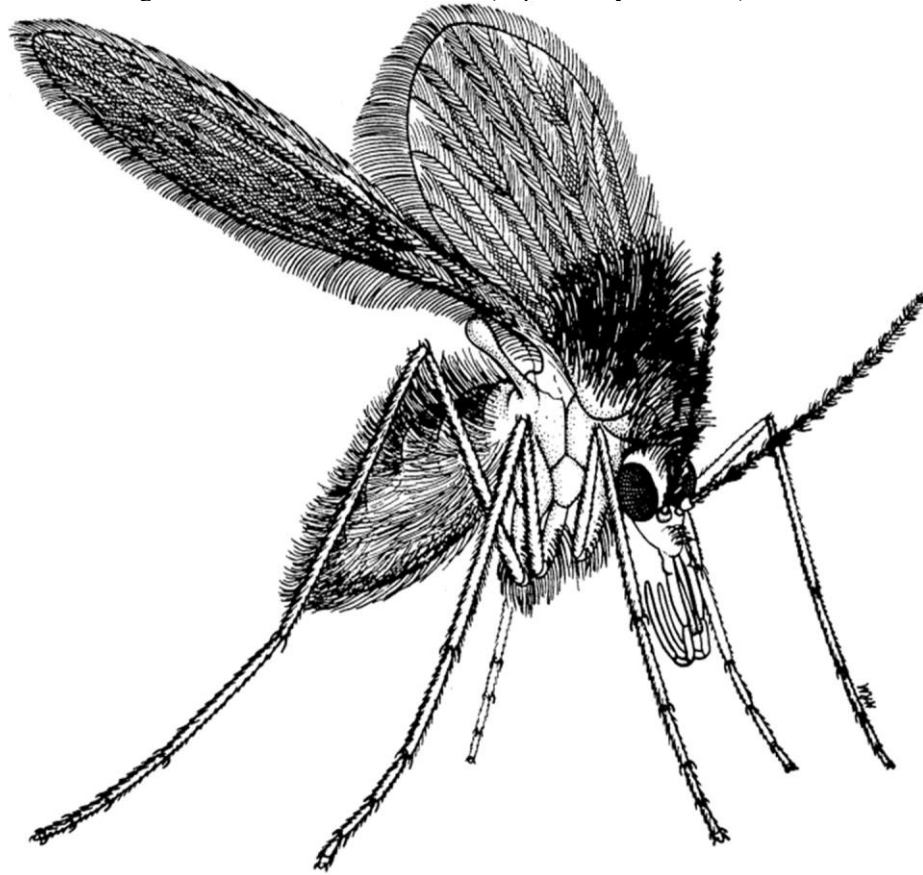
de julho de 2007, o que resultou na manutenção de seu registro pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. No entanto, não existem estudos que comprovem a efetividade do uso dessa vacina na redução da incidência da leishmaniose tegumentar. Dessa forma, o seu uso está restrito à proteção individual dos cães e não como uma ferramenta de Saúde Pública, e o tratamento existente na atualidade é muitas vezes tóxico (RAIMUNDO et al., 2022; BRASIL, 2021).

1.2 HOSPEDEIRO INVERTEBRADO

As leishmanioses são consideradas antropozoonoses que acometem mamíferos, sendo o homem um hospedeiro acidental, e tem como hospedeiro intermediário, os flebotomíneos. Os flebotomíneos são pequenos com um comprimento de corpo raramente superior a 3 mm, sua cor varia entre branco e preto, quando em repouso, eles mantêm suas asas em ângulo acima do abdômen e são peludos (Figura 5).

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular ou noturna, embora algumas espécies mordam durante o dia. Os locais de descanso diurnos são comparativamente frescos e úmidos e incluem casas; latrinas; adegas; estábulos; cavernas; fissuras em paredes, rochas ou solo; vegetação densa; buracos de árvores e contrafortes; tocas de roedores e outros mamíferos e ninhos de pássaros (KILLICK-KENDRICK, 1999). As fêmeas da maioria das espécies são predominantemente exofágico (mordendo ao ar livre) e exofilico (descansando ao ar livre durante a maturação dos ovos) (SANGIORGI et al., 2012).

Figura 5 - Fêmea de flebotomíneo (Diptera: Psychodidae)



Fonte: Killick-Kendrick (1999).

1.3 HOSPEDEIROS VERTEBRADOS

Os animais mamíferos são acometidos pela doença, como cães e gatos. A leishmaniose canina (Lcan) pode se apresentar como visceral ou tegumentar. A LT canina é caracterizada por uma lesão única no local da picada ou múltiplas lesões na pele e/ou mucosas, semelhante aos casos humanos. A LV canina é caracterizada por uma grande variedade de sinais clínicos e alterações clínico-patológicas, a maioria das quais resulta de mecanismos imunomediados. Muitas dessas alterações são atribuídas à formação e deposição de imunocomplexos circulantes (ICC) em tecidos específicos (CARVALHO, 2017), causando vasculite, poliartrite, uveíte, meningite e glomerulonefrite (Figura 6).

Figura 6 - Manifestações clínicas de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) infantum*: (a) cão assintomático (aparentemente saudável, mas infectado); (b) alopecia não pruriginosa generalizada e múltiplas outras anormalidades dermatológicas; (c)



Fonte: Ribeiro et al. (2007).

De acordo com a presença e ausência de um ou mais sintomas os animais podem ser classificados como assintomático, oligossintomáticos e sintomáticos que podem causar proteinúria e evoluir para insuficiência renal e eventualmente morte (BRACHELENTE et al., 2005). A resposta humoral marcada e a deposição de ICC resultante em órgãos-alvo de cães suscetíveis constituem a base da patogênese da LCan, explicando o amplo espectro clínico observado (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014). A natureza da resposta imune individual determina se a infecção será controlada com sucesso ou se os cães desenvolvem sinais clínicos devido à deposição de ICC.

Diferentes estudos revelaram que em áreas endêmicas com elevada prevalência de infecção, a maioria dos cães é assintomático e fonte de infecção para os insetos vetores devido

ao encontro de parasitos na pele (CABRAL et al., 1998). A existência de animais assintomáticos, como também daqueles que apresentam sinais e sintomas sugestivos de outras doenças, dificulta o diagnóstico da leishmaniose e destaca a importância do uso de testes sorológicos com elevada especificidade e sensibilidade a fim de auxiliar na detecção e eliminação dos animais soropositivos, que são considerados de risco para infecção humana (BRYDEN; IBBOTSON; FERGUSON, 2002; FERRER et al., 1991).

1.4 DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE

1.4.1 Diagnóstico Clínico

O diagnóstico clínico da LT pode ser feito com base nas características da lesão associadas à anamnese, onde os dados epidemiológicos são de grande importância (OMS, 2022). As formas tegumentares do Novo Mundo compreendem uma síndrome cujas manifestações clínicas dependem de alguns fatores, como a espécie de *Leishmania* envolvida e a relação do parasita com seu hospedeiro.

A LT produz um amplo espectro de lesões, o que torna o diagnóstico clínico nem sempre simples ou imediato (SARAIVA et al., 1998). A leishmaniose cutânea é caracterizada por uma ou múltiplas lesões, geralmente no local da picada do flebotomíneo, e típica (com bordas elevadas, e fundo granuloso, indolor). A leishmaniose mucosa é caracterizada por uma lesão única ou múltipla em mucosas, geralmente, a orofaringe é a mais acometida.

Nos cães, a úlcera cutânea sugestiva costuma ser única, eventualmente múltipla, localizada nas orelhas, focinho ou bolsa escrotal. No entanto, deve-se estar atento a outras doenças que causem úlceras, tais como neoplasias, piodermites e micoses. Estas devem ser incluídas no diagnóstico diferencial. Entre as micoses, especialmente a esporotricose deve ser considerada, por se tratar de uma zoonose e apresentar-se com lesões muito semelhantes às da LT (BRASIL, 2017).

1.4.2 Exames parasitológicos

Os exames parasitológicos visam à demonstração do parasito na lesão, o que pode ser feito em material obtido por escarificação, aspirado ou biópsia, por meio da pesquisa direta do parasito (formas amastigotas), do isolamento em meios de cultura (formas promastigotas) e de

29 exames de imunohistoquímica que detectam antígenos de *Leishmania* no tecido (BRASIL, 2017).

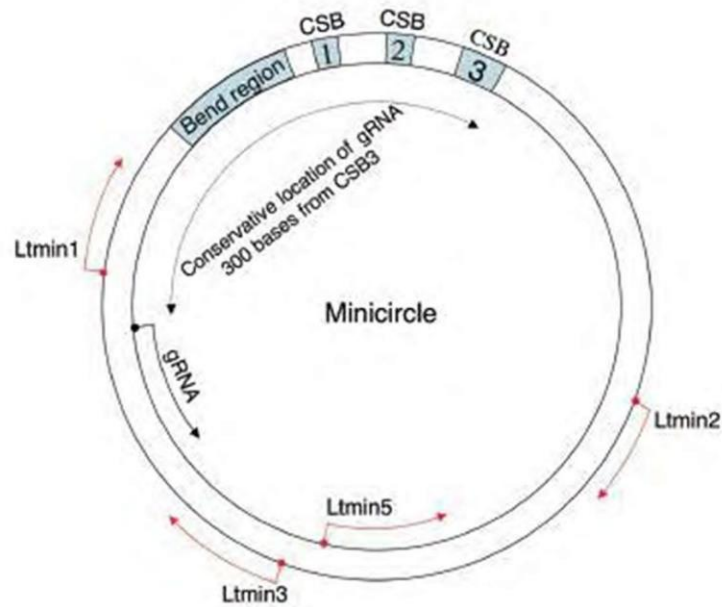
Além dos testes *in vitro*, a infecção *in vivo* pode ser utilizada para detectar o parasito. O material obtido por biópsia ou raspado de lesão é triturado em solução salina estéril e inoculado via intradérmica, no focinho e/ou patas de hamster (*Mesocricetus auratus*); as lesões no hamster, em geral, desenvolvem-se tardiamente, a partir de um mês. Esses animais devem ser acompanhados de três a seis meses (em biotério controlado) para verificação do aparecimento de lesões. Pela complexidade e alto custo, esse método é pouco utilizado, apesar de apresentar elevada sensibilidade entre os demais métodos parasitológicos (BRASIL, 2017).

1.4.3 Exames moleculares

Para o diagnóstico etiológico, as alternativas incluem abordagens moleculares para detectar o DNA de *Leishmania* usando métodos baseados em reação em cadeia da polimerase (PCR). Essa técnica permite a identificação das espécies de *Leishmania*. Os alvos mais comumente abordados são o DNA extracromossômico do cinetoplasto do minicírculo (kDNA) e o RNA ribossômico, como pequena subunidade de rRNA (Figura 7). No entanto, para ser útil como método de referência, os protocolos precisam ser padronizados e otimizados, e a sensibilidade e especificidade precisam ser avaliados em diferentes Centros de Pesquisa para serem considerados comparáveis e confiáveis (GOTO; LINDOSO, 2012).

A identificação de espécies de *Leishmania* constitui um desafio e as abordagens são projetadas para analisar diretamente os genes para glicose-6-fosfato desidrogenase, manose isomerase ou polimorfismo de comprimento de enzima de restrição de kDNA (ANTINORI et al.; 2009).

Figura 7 - Esquema da estrutura do minicírculo de *Leishmania* (cinetoplasto)



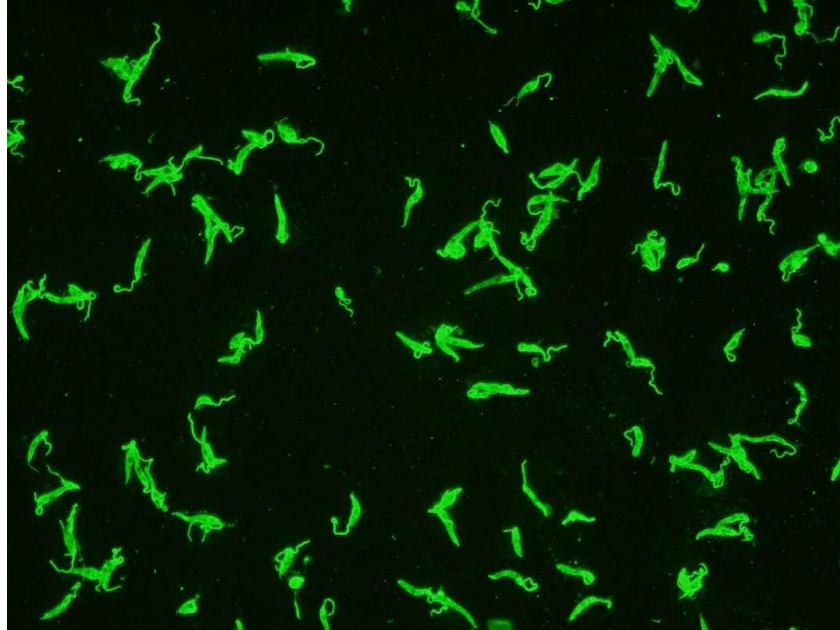
Fonte: adaptado de Kocher et al. (2018).

1.4.4 Sorologia por imunofluorescência indireta (IFI)

A sorologia por imunofluorescência indireta (IFI) é um método utilizado para a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* em seres humanos e animais domésticos (cães e gatos) (Figura 7). Para o diagnóstico de LT canina é recomendada a utilização de antígenos de espécies de *Leishmania* correlatas, como *L. braziliensis* ou *L. amazonensis*, para a pesquisa de anticorpos em amostras de soro (diluídas 1:40) (BRASIL, 2017). Nesta reação, a interação antígeno e anticorpo específicos é revelada com a adição de um conjugado anti-IgG (canina) marcado com isotiocianato de fluoresceína (FITC, fluorescência verde maçã) (Figura 8).

A IFI não é recomendada como único método diagnóstico, pois existe a possibilidade de reação falso positiva em indivíduos ou animais aparentemente saudáveis ou infectados com *Trypanosoma cruzi*, ou *L. chagasi* e esporotricose e com o pênfigo foliáceo sulamericano (SVS-MS, 2007). Por isso que o diagnóstico diferencial e aplicação de mais de um método laboratorial é fundamental para o correto diagnóstico da LT (BRASIL, 2017).

Figura 8 - Imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* sp.



Fonte: Adaptado de Lira (2005).

1.4.5 Limitação do diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da leishmaniose é baseado em métodos parasitológicos, que são invasivos, apresentam alto custo, requerem infraestrutura laboratorial e/ou profissionais capacitados. Os métodos imunológicos, geralmente, apresentam sensibilidade e/ou especificidade variáveis, como quando são aplicados para identificar casos assintomáticos e/ou hospedeiros mamíferos com baixos níveis de anticorpos anti-*Leishmania* (possível falso negativo) (SANTOS et al., 2020).

Os testes sorológicos também apresentam reatividade cruzada. Portanto, esses testes são ferramentas importantes para o diagnóstico da infecção por *Leishmania*, no entanto, não são marcadores eficazes para diagnosticar (LT) (GAVGANI, et al; 2022).

1.5 TRATAMENTO E VACINAS

Infelizmente, não existe vacina para a leishmaniose tegumentar canina, e o tratamento medicamentoso é muitas vezes ineficaz (SCOTT; NOVAIS, 2016; REGUERA et al., 2016; OLIAS-MOLERO et al., 2021; DANTAS-TORRES et al., 2020). O tratamento em seres humanos é baseado no uso de antimoniais, como o Glucantime, mas para animais não há tratamento recomendado, mas sim a eutanásia. Dentre os medicamentos que estão sendo

investigados para leishmaniose canina, estão o estibogluconato de sódio, a anfotericina B e o miltefosine. No entanto, estes fármacos ainda não são utilizados por falta de evidência pré-clínica, risco de resistência parasitária e manutenção do risco de transmissão humana (OLIAS-MOLERO et al., 2021; GONÇALVES et al., 2021; REGUERA et al., 2016).

O desenvolvimento de uma vacina que seja eficaz contra diferentes formas de leishmaniose, no Velho e no Novo Mundo, torna-se necessária e tem sido recomendada pela OMS como uma ferramenta possível para uma efetiva erradicação da doença (OMS, 2022).

Uma vacina comercializada no Brasil para a prevenção da leishmaniose visceral canina é a Leishmune. Ela consiste em uma fração glicoproteica purificada (FML, fucose-manose ligante), que é um antígeno presente na superfície do parasito ao longo de seu ciclo de vida, que provê uma segura proteção e alta imunogenicidade para os cães (Borja-Cabrera et al. 2008; Da Silva et. al. 2000; Nogueira 2005; Palatinik-de-Sousa et al. 2009; Parra 2007)

A vacina foi capaz de inibir a penetração de formas promastigotas e amastigotas em macrófagos de camundongos *in vitro*. A vacina está disponível no Brasil e é indicada para cães com sorologia negativa e em áreas endêmicas para leishmaniose visceral, conforme Bula Leishmune, Zoetis. Em outros países, podemos encontrar outras vacinas comercializadas (VÉLEZ; GÁLLEGO, 2020). Sendo que nos casos de LT canina, não há vacinas disponíveis no momento, e ainda estão em fase de pesquisa (GERMANÓ et al., 2022). Sendo assim, as medidas profiláticas são cruciais para evitar a infecção dos animais e a transmissão para os seres humanos.

1.6 MEDIDAS PROFILÁTICAS

As medidas mais utilizadas para o combate da enfermidade se baseiam no controle de vetores e dos reservatórios, proteção individual, diagnóstico precoce e tratamento dos doentes, manejo ambiental e educação em saúde (BRASIL, 2017). O cão doméstico é considerado o reservatório epidemiologicamente mais importante para a leishmaniose visceral americana, mas o Ministério da Saúde do Brasil não adota a vacinação canina como medida de controle da leishmaniose visceral humana, uma vez que pode haver resistência do dono, falha no acesso e na eficácia da vacina (BRASIL, 2017).

Em relação ao controle de vetor, devido ao diminuto tamanho, o encontro de larvas e pupas de flebotomíneos na natureza é tarefa extremamente difícil, por essa razão não há nenhuma medida de controle de vetores que contemple as fases imaturas. As medidas de

proteção preconizadas consistem basicamente em diminuir o contato direto entre humanos e os flebotomíneos. Nessas situações as orientações são o uso de repelentes, evitar os horários e ambientes onde esses vetores possam ter atividade (6:00h - 8:00h da manhã e da noite), a utilização de mosquiteiros de tela fina e, dentro do possível, a colocação de telas de proteção nas janelas.

Outras medidas importantes são manter sempre limpas as áreas próximas às residências e os abrigos de animais domésticos para evitar a presença de roedores; realizar podas periódicas nas árvores para que não se criem os ambientes sombreados; além de não acumular lixo orgânico, objetivando evitar a presença mamíferos comensais próximos às residências, como marsupiais e roedores, que são prováveis fontes de infecção para os flebotomíneos.

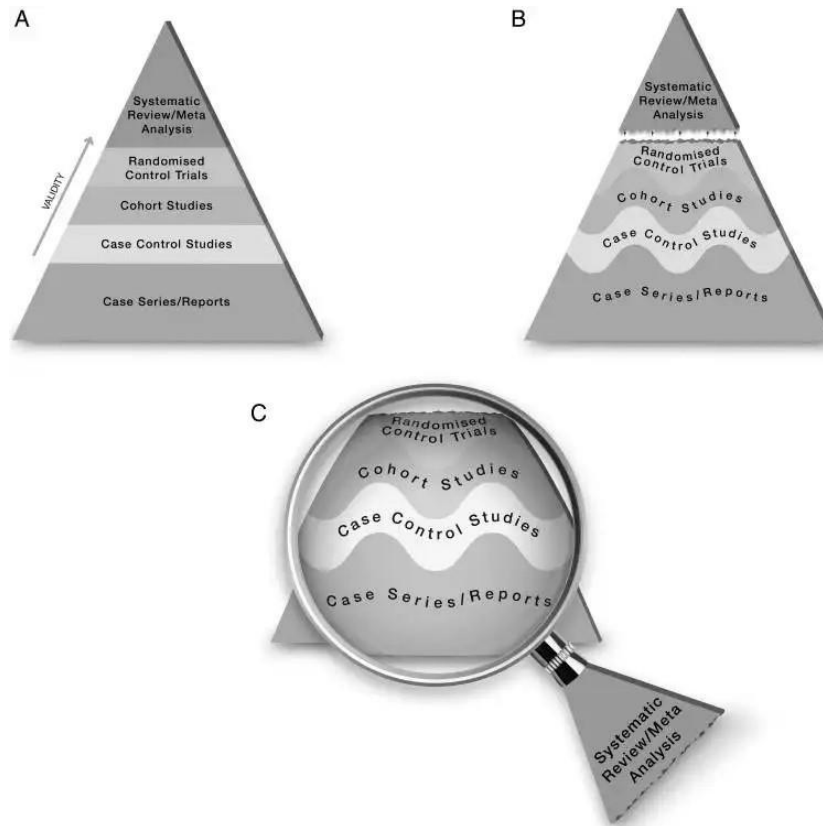
Para o controle da doença em áreas endêmicas, tem sido recomendado o uso de coleiras com inseticida que tem reduzido expressivamente o número de casos de transmissão em humanos e cães (ALVES et al., 2020; ASSIS et al., 2020; DANTAS-TORRES et al., 2019).

1.7 REVISÕES SISTEMÁTICAS E META-ANÁLISE

A revisão sistemática (RS) é um método de pesquisa que sumariza as evidências provenientes de estudos primários conduzidos para responder uma questão específica de pesquisa (GLASZIOU et al., 2001). A RS reúne da literatura os melhores estudos primários com alto rigor na seleção e interpretação, e é extensivamente utilizada para a formulação de políticas de saúde (DEKKERS, 2019; DE LUCA-CANTO et al., 2020).

O imenso volume de pesquisa primária e sua diversidade em termos de metodologia exigem que ela seja revisada e sintetizada para fazer interpretações e decisões racionais. Utiliza um processo de revisão de literatura abrangente, imparcial e reproduzível, que localiza, avalia e sintetiza o conjunto de evidências dos estudos científicos para obter uma visão geral e confiável da estimativa do efeito da intervenção (HIGGINS et al., 2009). Essa necessidade levou a todo um campo de pesquisa secundária para sintetizar dados da pesquisa primária. Sendo assim, as revisões sistemáticas com ou sem meta-análise são consideradas o mais alto nível da evidência entre todos os estudos (Figura 9).

Figura 9 - Pirâmide da medicina baseada em evidências. A pirâmide revisada: as revisões sistemáticas são uma lente através da qual a evidência é vista (aplicada)



Fonte: Murad et al. (2016).

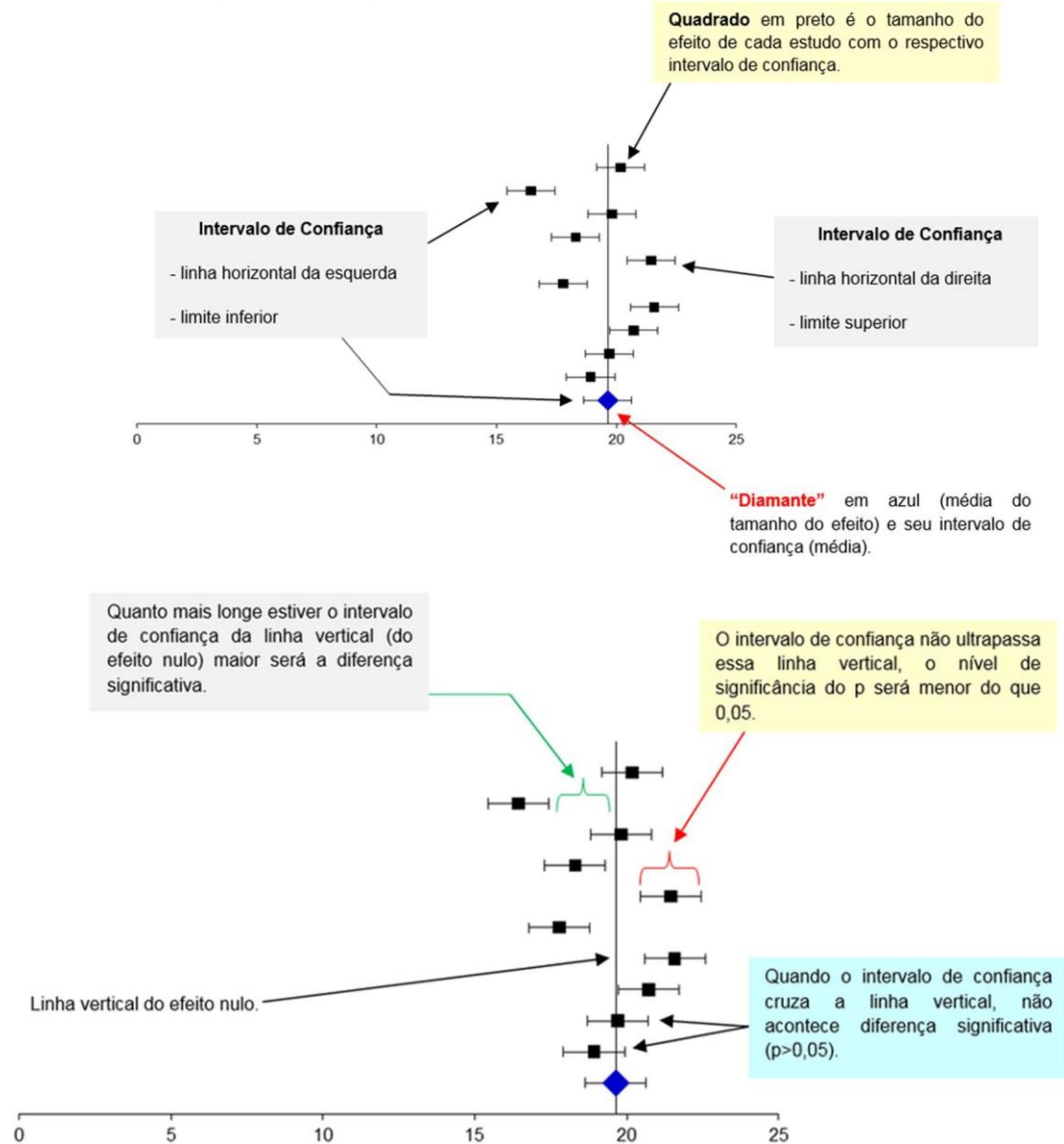
O método das RS teve origem nos Estados Unidos na área de ciências sociais (GLASS, 1976 apud WADDINGTON; REID, 2012) e, posteriormente, se tornou útil para as políticas e práticas em saúde onde proliferaram particularmente alavancadas pela Colaboração Cochrane a partir de 1999 (HIGGINS et al., 2011). Atualmente, RS é o pilar fundamental da pesquisa secundária no mundo. O princípio da RS é aplicar “estratégias científicas que limitam o viés à montagem sistemática, avaliação crítica e síntese de todos os estudos de pesquisa relevantes sobre um tópico específico” (COOK; MULROW; HAYNES, 1997).

Assim, em contraste com as revisões narrativas tradicionais, há uma tentativa rigorosa de limitar o viés no processo de seleção, revisão e síntese de pesquisas primárias. Esses esforços para minimizar o viés levaram as revisões sistemáticas a serem consideradas superiores aos desenhos de estudos de pesquisa primária, encontrando assim um lugar no topo da hierarquia das evidências de pesquisa (DE LUCA CANTO et al., 2020). O objetivo final das RS é facilitar as decisões de saúde que sejam objetivas, reproduzíveis e transparentes (COCHRANE, 2016;

HIGGINS et al., 2011). As revisões sistemáticas podem ter ou não uma análise estatística, a meta-análise.

A reunião de evidência sumarizada com precisão e poder de análise tem sido recurso cada vez mais importante no setor de saúde, deste modo a metanálise é uma ferramenta estatística que é usada para agrupar matematicamente dados derivados de uma revisão sistemática (COLLINS et al., 2019). A metanálise dos dados é inadequada se não for derivada de uma RS. Seria como aplicar testes estatísticos em dados que não são derivados de pesquisas primárias (MATHEW; KAUR; DSOUZA, 2021). A análise estatística dos estudos primários analisados na RS, combinando-os para obter uma estimativa global dos resultados. Isso possibilita aumentar não só a precisão das estimativas, mas também aumenta o poder estatístico. Para a análise estatística, o software STATA é um dos mais indicados para avaliar a estimativa do efeito em estudos em animais (VESTERINEN et al., 2014). A estimativa do efeito de cada estudo é agrupada em gráfico de floresta (Figura 10) e aplicado testes estatísticos que avaliam a significância estatística e heterogeneidade dos estudos (VESTERINEN et al., 2014; HIGGINS et al., 2011).

Figura 10 - Interpretação dos dados no Gráfico de floresta (dados fictícios).



Fonte: Marques Junior (2014).

O gráfico em Floresta (do inglês: *forest plot*) é utilizado para apresentar as estimativas de efeito dos estudos primários (exemplos de desfecho: prevalência, incidência, risco relativo, *odds ratio*, diferença de média e outros), gerando o efeito sumários dos resultados agrupados com seus respectivos intervalos de confiança. Cada estudo é apresentado em linhas horizontais, e pode ser identificado por nome do autor e data de publicação ou pelo acrônimo do estudo. Ao lado da identificação do estudo estão representados na forma de quadrado e ou círculo os resultados do desfecho (exemplo: número de caso sobre o total de pacientes no grupo intervenção e controle, em estudos do tipo ensaio clínico). Uma vez definida a medida de efeito

utilizada, a estimativa de efeito pontual da intervenção no estudo é apresentada em forma de um quadrado negro, com linhas em ambos os lados horizontais do quadrado, que representam o intervalo de confiança da estimativa (geralmente com 95% de nível de confiança). A área do quadrado representa o peso do estudo na metanálise e quanto maior esta área, maior é o número de eventos. O efeito sumário é representado pelo diamante que aparece em baixo das estimativas dos estudos incluídos. Para interpretação dos resultados, estudos que concentram o quadrado a esquerda da linha vertical do gráfico indicam resultados a favor da intervenção e os estudos que concentram seus quadrados a direita da linha vertical indicam resultados a favor do grupo controle. O mesmo se aplica para a interpretação da metanálise (diamante). A linha sólida vertical que divide os lados do gráfico é a linha da ausência de efeito. Se o diamante ou as linhas que representam os intervalos de confiança de cada estudo individual estiverem em cima da linha vertical da ausência de efeito, a interpretação é que não existem diferenças estatisticamente significantes entre os tratamentos ou que a metanálise é inconclusiva, dependendo de quão largo seja o intervalo de confiança (BRASIL, 2012; 2021).

Para validar a significância estatística é importante a escolha do método a ser implementado. O teste mais simples e mais utilizado nas metanálises é o inverso da variância, o qual pode ser usado para todas as métricas de desfechos dicotômicos (risco relativo, *odds ratios* e outros) e desfechos contínuos (diferença de médias e outros). Neste método pode ser utilizado Dersimonian e Laird, e outros como Mantel-Haenszel e Peto para avaliar o efeito final (BRASIL, 2021)

A escolha do método estatístico também dependerá da heterogeneidade entre os estudos. A heterogeneidade pode ser definida como qualquer tipo de variabilidade entre os estudos incluídos em uma RS, como população, intervenção utilizada, os desfechos e aspectos metodológicos. A heterogeneidade estatística ocorre quando as estimativas de efeitos dos estudos diferem entre eles mais do que se esperaria apenas pelo acaso (erro aleatório). Uma forma visual e simples de os autores identificarem a presença de heterogeneidade na metanálise é observar se não há sobreposição (ou pouca sobreposição) dos intervalos de confiança dos resultados dos estudos incluídos. A heterogeneidade também deve ser avaliada por medidas estatísticas, como o teste do Q^2 , valores de I^2 e variância entre os estudos, que é denominada de T^2 (todas essas medidas estão disponíveis nos gráficos em floresta do software Review Manager e Stata). A medida estatística de I^2 é a porcentagem (0% a 100%) de variabilidade observada nas estimativas de efeito. Valores de I^2 próximos de 0% indicam que quase toda a variabilidade observada é devido ao erro aleatório (explicado por diferenças no tamanho amostral), portanto,

não há heterogeneidade observada. Existem alguns limiares propostos para interpretar os valores de I^2 , mas essa interpretação deve ser realizada com cuidado: 0% a 40%: pode não ser importante; 30% a 60% pode representar heterogeneidade moderada; 50% a 90% pode representar heterogeneidade substancial; 75% a 100%: heterogeneidade considerável.

Importante destacar que se não houver heterogeneidade substancial é sugerido a utilização do modelo de efeito fixo, no qual os intervalos de confiança ignoram a extensão da heterogeneidade, enquanto que se a heterogeneidade for substancial (moderada ou alta) é recomendado a utilização do modelo de efeitos aleatórios que incorporam a heterogeneidade entre os estudos. Esta decisão é tomada durante a execução dos testes no software estatístico (BRASIL, 2021).

Além da meta-análise, a análise do risco de viés é uma etapa fundamental nas RS, na qual são avaliados os critérios relacionados à qualidade metodológica e ao relatório. Vieses são considerados quando o estudo está sujeito a erro na concepção e delineamento, ou na coleta, análise, interpretação, publicação ou revisão de dados, que pode levar a resultados ou conclusões que sejam sistematicamente diferentes da verdade (BRASIL, 2014)

Para avaliar o risco de viés dos estudos incluídos na revisão, a Cochrane formulou ferramentas para avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e não randomizados. A Universidade de Joanna Briggs Institute (Austrália) também desenvolveu ferramentas para avaliação crítica de estudos randomizados e não randomizados. Mas para revisões sistemáticas utilizando modelos animais, a análise do viés é recente (HOOJIMANS et al., 2014). Atualmente, são utilizadas ferramentas padronizadas, exemplo SYRCLE (CAMARADES, 2021) e o ARRIVE (DU SERT et al., 2020) para verificar a qualidade metodológica e de relatório, respectivamente.

1.8 OBJETIVOS

1.8.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão sistemática com metanálise para avaliar a prevalência da leishmaniose tegumentar canina no Brasil a partir do diagnóstico laboratorial.

1.8.2 Objetivos Específicos

- Identificar e reunir estudos sobre prevalência da leishmaniose tegumentar canina no Brasil utilizando métodos de diagnóstico laboratorial;
- Realizar a metanálise de prevalência da doença de acordo com regiões e métodos de diagnóstico;
- Avaliar o risco de viés dos estudos incluídos na revisão;
- Verificar as áreas com maior prevalência da doença;
- Identificar quais os fatores de riscos associados a LT canina (LTcan);
- Identificar as espécies de *Leishmania* envolvidas com a LT canina (LTcan).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 DESENHO DO ESTUDO

Esta revisão sistemática atende às recomendações dos Itens de Relatórios Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA) (PAGE et al., 2021) e Cochrane Handbook (HIGGINS et al., 2022). Registramos o protocolo no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas PROSPERO (número CRD42021262437) (PHILLIPS et al., 2015).

A questão da pesquisa foi elaborada de acordo com o acrônimo PICOS: Qual é a prevalência de leishmaniose tegumentar canina utilizando métodos de diagnóstico laboratorial e os fatores de risco associados à doença no Brasil? Os fatores de risco para o desenvolvimento da doença são os atributos da população humana, tais como sexo, idade, nível socioeconômico, ocupação, atividades de lazer, zona, local e características de moradia, características do entorno do domicílio, tais como presença de anexos domiciliares (barracão, paiol, tulha e abrigos de animais domésticos), animais domésticos, animais sinantópicos, proximidade com matas, que propiciam o contato com os vetores das *Leishmanias spp.* Vale lembrar que o nível de infecção natural dos vetores dependem da intensidade da sua relação com os reservatórios da leishmania, e que as condições climatológicas influenciam na densidade vetorial. Construímos a questão de pesquisa de acordo com o acrônimo PICOS (População = cães residentes no Brasil; Intervenção = Infecção natural por parasitas do gênero *Leishmania*; Comparador = Não aplicável; Desfechos = Prevalência de leishmaniose tegumentar (cutânea ou mucosa), fatores preditivos do meio ambiente, agente e hospedeiro; Desenho do estudo = Estudos in vivo, mas animais não experimentais) (Material suplementar Tabela S1).

2.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA

A partir de artigos de referência indicados pelo especialista (IGD e MVC), os pesquisadores (KVRFF, BBA, JPF, IGD) realizaram as buscas usando descritores, termos e operadores para tentar recuperar os artigos potenciais. Os artigos foram recuperados nas bases de dados PubMed (US National Library of Medicine), Web of Science (Clarivate Analytics, EUA), EMBASE, Scopus e LILACS (Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde), também na literatura cinza (Google Scholar). O período de pesquisa dos

artigos foi entre junho e setembro de 2021, sem restrição do período de publicação. Os descritores (MeSH Terms, Medical Subject Headings / PubMed) e os termos foram separados em quatro blocos de pesquisa (Tegumentary Leishmaniasis, Host, Brazil e Visceral leishmaniosis) e combinados com operadores booleanos. Um piloto de pesquisas no PubMed foi conduzido. A busca no PubMed baseou-se nas seguintes combinações: “Leishmaniasis, Cutaneous / epidemiology”; OU “Leishmaniose Cutânea / transmissão”; OU “Leishmania / epidemiologia OU “leishmania / fisiologia” OU “Leishmaniose canina”; E “Reservatórios de doenças”; OU “Doença de Animais”; OU “Animais”; E “Brasil”; E NÃO “Leishmaniose visceral”. A partir da busca no PubMed, nos adaptamos aos termos e estratégias das outras bases de dados (Material Suplementar Tabela S2). Após pesquisar estudos potenciais nas bases de dados, as referências foram gerenciadas no EndNote Manager para remover duplicatas. O aplicativo Rayyan QCRI foi usado para a elegibilidade dos estudos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão.

2.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Após pesquisar estudos potenciais nas bases de dados, as referências foram gerenciadas no EndNote Manager para remover duplicatas. O aplicativo Rayyan QCRI foi usado para a elegibilidade dos estudos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão (Material Suplementar Tabela S1). Dois pesquisadores (BBA e KVRFB) leram de forma independente e cega os títulos e resumos. Os revisores excluíram estudos que não atendiam aos critérios de inclusão. Posteriormente, leram o texto completo e o excluíram de acordo com os requisitos. Os casos discordantes foram resolvidos por outros dois revisores especialistas (IGD e EMD).

2.3.1 Critérios de inclusão

1. População: Cão (*Canis lupus familiaris*) (selvagem, doméstico, bairro ou outro), qualquer sexo, idade e peso. Animais residentes no Brasil.
2. Intervenção: Infecção natural por espécies de *Leishmania* causando leishmaniose tegumentar, a qualquer momento. Estudos com diagnóstico definido de leishmaniose (infecção por *Leishmania* desde que clara, clínica e laboratorialmente).
3. Estudos em animais (artigos originais: estudos retrospectivos e prospectivos).
4. Resultados: Prevalência ou incidência (n%, diferença de risco ou *odds ratio*)

de cães infectados por *Leishmania*: método de diagnóstico, parasita encontrado, método de captura, tipo de amostra, número de casos positivos e presença de outros patógenos), características da região de estudo (ambiente, temperatura média local, precipitação anual, altitude média e coordenadas geográficas), fluxo e tempo. 5. Todos os idiomas, todas as datas de publicação.

2.3.2 Critérios de exclusão

Critérios de exclusão: 1. População: Não cães, animais não vertebrados, humanos, Estudos experimentais (animais infectados experimentalmente em laboratório), modelo de leishmaniose visceral, estudos in vitro. Os animais não residentes ou localizados no Brasil. 2. Exposição: Leishmaniose visceral; estudos que não esclareceram a forma da leishmaniose. Estudos que não relataram a técnica usada para detectar *Leishmania*; ou nenhum outro critério diagnóstico de leishmaniose tegumentar (clínico ou laboratorial); 3. Tipo de estudo: estudos in vitro, estudos experimentais in vivo, estudos com seres humanos, resenhas, comentários, cartas, editoriais, teses, dissertações, publicações de erratas, entrevistas e diretrizes, resumos de eventos, documentos de conferências; 4. Desfecho: os estudos não relataram o método de diagnóstico da leishmaniose (laboratorial) ou as espécies animais estudadas.

2.4 EXTRAÇÃO DE DADOS

Os estudos incluídos foram distribuídos aleatoriamente (Research Randomizer ®, www.randomizer.org) para três pesquisadores (JPF, BBA e KVRF). A extração de dados foi realizada de forma independente. Dados extraídos: 1. População (Número de animais, origem, tempo, características do ambiente; Espécie, sexo dos animais, idade e peso. 2. Intervenção (método de diagnóstico de *Leishmania*, amostra, substrato/alvo antigênico). 3. Resultado: Prevalência ou incidência (número de casos, porcentagem) de cães com leishmaniose tegumentar por método de diagnóstico; Espécie infectante de *Leishmania* (qualitativo e quantitativo). Resultado (s) secundário (s): cruzamento de outros patógenos (prevalência ou incidência, n, %). Outros: Autor, ano, conflito de interesse, análise estatística. Os estudos foram distribuídos aleatoriamente (como mencionado acima) para os revisores especialistas do grupo

II (IGD e EMD) para validar os dados extraídos. Foram feitas as correções dos dados tabulados, e um consenso entre pares de revisores (randomizados).

2.5 ANÁLISE DO RISCO DE VIÉS

Para a avaliação da qualidade, o risco de viés dos estudos incluídos foi avaliado com base na lista de verificação do Centro de Revisão Sistemática para Experimentação com Animais de Laboratório (SYRCLE, NC3RS, Reino Unido) (HOOIJMANS et al., 2014). Dois revisores (BBA e KVERF; TLL e ETBM) de forma independente e cega avaliaram dez critérios estabelecidos e revisados pelo especialista (IGD). As perguntas foram respondidas com 'Sim' (Sim), 'Não' ou 'Não está claro' (Não está claro). As discrepâncias foram solucionadas pela expertise (IGD). O risco de viés dos estudos incluídos foi qualitativamente sintetizado individualmente e entre os estudos.

2.6 SÍNTESE QUALITATIVA E META-ANÁLISE

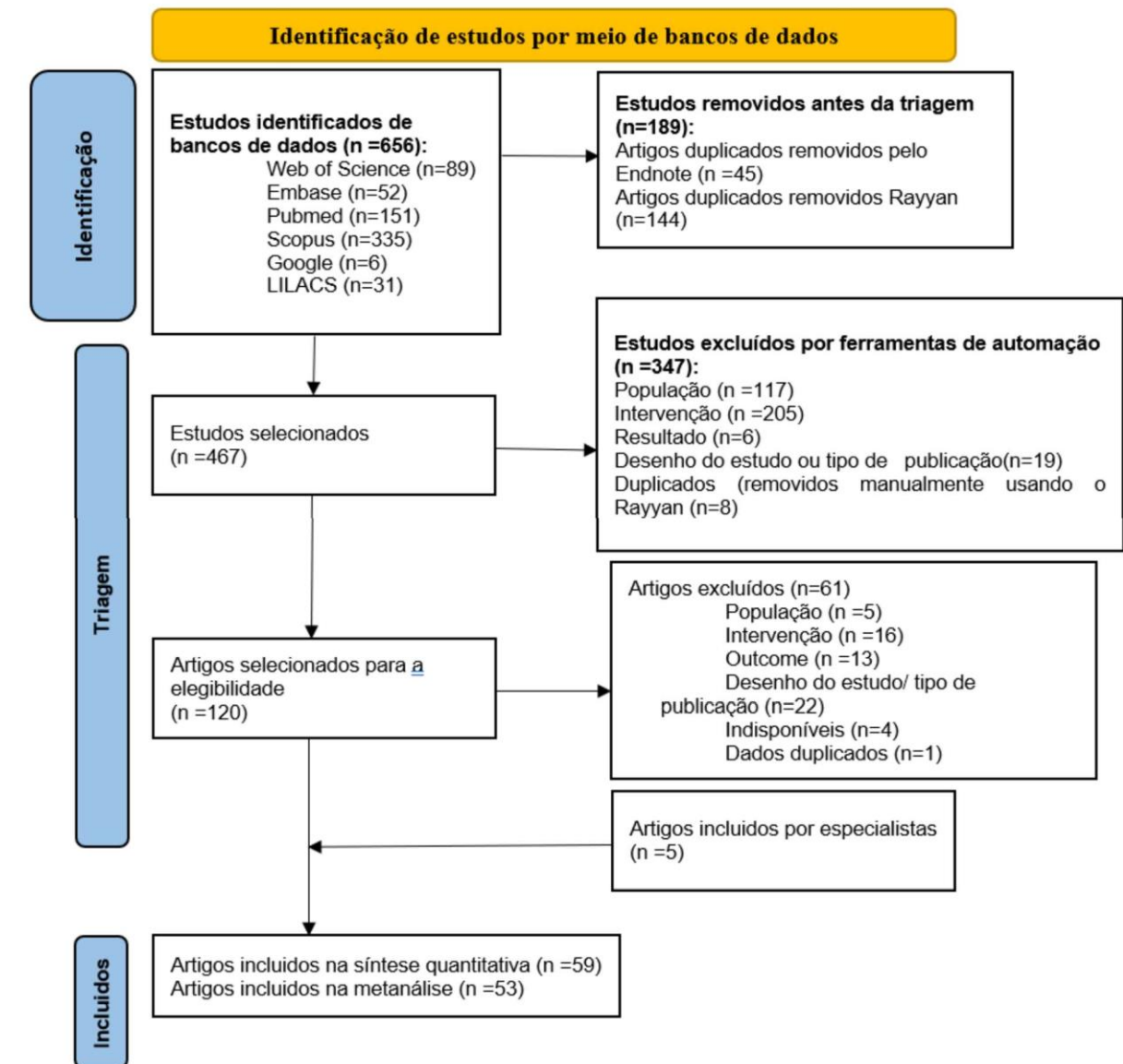
Fornecemos uma síntese narrativa dos achados dos estudos incluídos, estruturados em torno da região, tipo de exposição (doméstica ou de vizinhança), área de localização (urbana, rural, periurbana e outras), forma clínica (cutânea, mucosa, mucocutânea), tempo (anos), método de diagnóstico laboratorial e amostras testada.

Para a meta-análise, os efeitos da exposição para cada estudo foram calculados a partir do cálculo de prevalência (n° de eventos/ n° de animais). Um mínimo de 3 estudos foram considerados para realizar a metanálise. O efeito randômico foi aplicado quando houve diferença substancial (heterogeneidade pelo $I^2 < 50\%$) Foi aplicado o intervalo de confiança de 95% e valores de P bilateral para cada resultado. O 'Q' de Cochran foi utilizado para avaliar a heterogeneidade, Q foi usado para calcular a variância em excesso. I^2 foi usado para relatar heterogeneidade, pois descreve a proporção da variância observada que as verdadeiras diferenças no tamanho do efeito entre os estudos, e considerando um valor de I^2 maior que 50% indica heterogeneidade substancial. Foi realizada a análise de sensibilidade com base na qualidade do estudo e subgrupos; método de diagnóstico da leishmaniose (sorologia, ensaio imunoenzimático, reação em cadeia da polimerase com amostra de sangue e cutânea). Também avaliamos o viés de publicação por gráfico de funil e teste de Egger and Begg. A análise foi realizada no software StataTM version 14.0.

3 RESULTADOS

Um total de 656 estudos foram recuperados das bases de dados (Fig. 9). Depois que as duplicatas foram removidas (189), o resumo e o título de 467 estudos foram lidos por dois autores que selecionaram cegos. De acordo com os critérios de elegibilidade, 123 estudos foram selecionados. Após a leitura do texto completo, 59 estudos foram incluídos para esta revisão e 53 para meta-análise (Fig. 11).

Figura 11 – Fluxograma PRISMA da identificação dos estudos incluídos nesta revisão sistemática



Fonte: elaborado pelo autor adaptado de Page et al. (2021)

O primeiro estudo foi publicado em 1984 (BARRETTO et al., 1981) e o último em 2019, ambos reportando casos de LTCan na Bahia (LAGO et al., 2019) (Tabela 1). A maioria dos estudos reportou o ano da coleta dos dados, estima-se que o primeiro caso reportado tenha sido de amostras de cães com lesão sugestiva de leishmaniose e confirmadas por teste laboratorial em 1976-1979 (CUBA CUBA et al., 1985). A partir da década de 80, todas as regiões do Brasil têm notificado casos de LTCan. A região Sudeste (RJ, SP, ES e MG) teve a maior parte dos artigos publicados (24) (Tabela 1). Seguido da região Sul (19) (PR, SC e RS), Nordeste (12) (BA, CE e PE) e Norte (4) (AM, AC, TO e PA) (Tabela 1). O Centro-Oeste foi representado por dois estudos incluídos (DF e MT) (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo dos resultados dos estudos incluído (n=59)

Referência/Estado	Número de casos positivos	Conclusão
NORTE (4)		
Basano et al., 2016/AM	Títulos IIF $\geq 40 = 8/99$ (8%)	Tanto <i>T. gondii</i> quanto <i>L. amazonenses</i> são importantes agentes zoonóticos e atuam nessa região. O município estudado, e especialmente suas comunidades ribeirinhas, possui peculiaridades geográficas, sociais e ecológicas.
Lima et al., 2017/TO#	ELISA = 16/213 (7.5%); IIF= 2/213 (0.9%)	Houve baixa prevalência de infecção na região, e diferenças significativas entre os principais métodos sorológicos utilizados para o diagnóstico de leishmaniose. Esses achados indicaram que a detecção de <i>Leishmania</i> spp. requer mais estudo e melhoria.
Brilhante et al., 2019/AC	Exame direto (13/00), cultivo em NNN Pele PCR Aninhado-PCR S17/S18 domésticos no estado do Acre mostrou 8/13; ITS1 6/13, (46,15%); SSU rRNA uma alta proporção de animais 8/13 (61,5%); RFLP hsp70C 9/13 infectados e que há pela primeira vez a (69,23%); HRM 10/12 (83,33%); Sangue ocorrência de <i>L. braziliensis</i> tipo 2 no PCR: 0/40	O diagnóstico de <i>Leishmania</i> em cães (0/40); Brasil. Também sugere que <i>L. braziliensis</i> tipo 2 é trans e cis-andino.
Santos et al., 2020/PA	Sangue pcr =34/40 (95%); 21/34 foram Dada a diversidade de patógenos sequenciados= <i>L. guyanensis</i> (21/5), <i>L. circulantes</i> , a elucidação do papel do cão <i>braziliensis</i> (3/21) e <i>Leishmania</i> sp. (21/1) no ciclo leishmania spp. nas aldeias	amazônicas é imprescindível para a vigilância da CL na região. Este é o primeiro relato no Brasil, confirmado por sequenciamento, da infecção canina por <i>L. guyanensis</i> , espécie altamente resistente ao tratamento em humanos, com a droga de primeira escolha (Glucantime®).
NORDESTE (12)		
Barretto et al., 1984/BA	Mancha 3/98 ou 3% (amastigotes em lesões Ainda não há etapas concretas para cutâneas); 1/13 meio de cultura enquadrar o cão como um reservatório	

	<p>(promastigote não infectou hamsters); 9 secundário de <i>L. braziliensis</i>, não há isolados cresceram em meio LIT, todos evidências para descartar seu papel na cresceram discretamente na NNN e doença epidemiológica. Eles acreditam abundantes em Difco Agar Sangue. Meio que o cão pode ter alguma importância Schneider: parasita cresceu como reservatório secundário de <i>L. b.</i> abundantemente. IIF: 7/7; Padrão de <i>braziliensis</i> em Três Braços devido às isozyme de 6/9 ou 66,6% das amostras seguintes evidências: 1) O parasita que foram indistinguíveis da amostra padrão <i>L. circula</i> em homem e cão na região se (<i>V. braziliensis</i> comporta como <i>L. b. braziliensis'</i>, 2) Crianças que não frequentam a vegetação local e adquirem a doença, aparentemente, em suas casas; 3) altamente predominante no domicílio e no seu entorno; 4) Esta espécie de mosca de areia, da região e criada em laboratório, está experimentalmente infectada com lesões de cães parasitados com <i>L. b. braziliensis</i> de origem canina, também da região.</p>	
Cuba Cuba et al., 1985/BA*	kDNA (2/2); Isoenzima (1/2)	<p>A partir das evidências apresentadas utilizando-se essas técnicas bioquímicas para análise de kDNA foi que oestoques de <i>L. brasiliensis</i> de cães são muito semelhantes aos estoques de <i>L. Brasiliensis</i> de pacientes com leishmaniose cutânea e mucocutânea. Componentes comuns estão presentes na membrana superficial do parasita, que já está em ambos os testes; os estágios de cães e humanos reagiram da mesma forma que os padrões padrão de <i>L. brasiliensis</i>.</p>
Brandão-Filho et al., 1994/PE	Títulos IIF $\geq 40 = 26/139$ (18.7%)	<p>(1) O vetor predominante é provavelmente <i>Lu, witmani</i>. (2) O lar não é um fator de risco para a LCA. (3) Os resultados em relação aos reservatórios sugerem a ocorrência de um foco natural enzoótico nesta área. (4) Não foram encontradas evidências diretas do papel do cão no ciclo peridomestic.</p>
Sherlock et al., 1996/BA	IIF= 7/31 (22%)	<p>Novos hospedeiros estão envolvidos, como o que causa a perturbação ecológica, bem como o cão suscetível, que também não fazia parte do nicho ecológico primitivo natural, tornando-se vítimas da ação patogênica da <i>Leishmania</i>.</p>
Follador et al., 1999/BA	IIF (Títulos NR) = 4/104 (3.9%); ELISA = 8/100 (8%)	<p>A positividade encontrada em pesquisas sorológicas caninas e equinas revela a participação dos animais no ciclo da doença no local, embora o papel real disso exija maior participação nos estudos.</p>
Brandão-Filho et al., 2003/PE	Giemsa- filmes manchados de tecido = 6/61 (9,8%); kDNA PCR pele= 12/61 (19,67%)	<p>(1) Os pequenos mamíferos amantes do solo, especialmente os roedores, são os principais reservatórios silvestres de <i>L. braziliensis</i> em uma área altamente endêmica do Estado de Pernambuco. (2)</p>

		<p>A descoberta do zymodeme do COI / Z74 em humanos e roedores sustenta a hipótese de que estas são fontes de infecção para humanos e, portanto, reservatórios.</p> <p>(3) O envolvimento de cães e cavalos neste ciclo não foi comprovado. (4) O estudo sugere que uma série de pequenos mamíferos selvagens amantes do solosão reservatórios cuja importância oscilará dependendo dos ciclos reprodutivos ligados às mudanças climáticas do habitat.</p>
Cunha, Lima e Pompeu IIF Títulos $\geq 40 = 46/126$ (36.5%) (2006)/CE		<p>Os seres <i>humanos foram infectados com L. (V) braziliensis</i>, independentemente do sexo e idade, e os cães infectados foram associados à <i>L. (V) braziliensis</i>, independentemente do sexo e idade, e os cães infectados foram associados à <i>L. braziliensis</i>. Portanto, esses resultados corroboram a hipótese de transmissão doméstica/peridoméstica de <i>L. braziliensis</i>.</p>
Carvalho et al., 2015/BA	<p>ELISA = 234/560 (41,78%); PCR positivo para <i>L. (V.) braziliensis</i>= 226 animais/413 (54,72%)</p>	<p>O grande número de cães <i>positivos para L. braziliensis identificados</i> na região estudada requer atenção e acompanhamento clínico utilizando técnicas sorológicas e moleculares para identificar animais doentes. Evidências físicas, bioquímicas e hematológicas podem não estar disponíveis nos animais, dificultando o diagnóstico clínico positivo dos caninos afetados.</p>
Leça Júnior et al., 2015/BA	<p>Parasitológico = 0/13 (0%); Títulos IIF $\geq 40 = 147/292$ cães (50,3%)</p>	<p>A região tem alta prevalência de leishmaniose cutânea canina e grande número de cães infectados assintomáticos. Embora o papel dos cães como reservatórios de LCA ainda não seja comprovado, esses resultados indicam que cães assintomáticos podem ser importantes na manutenção do agente de ATL na área de estudo, pois a área é considerada uma área endêmica para ACL humana.</p>
Lago et al., 2019/BA	<p>PCR: 41/61 ou 67%; <i>Teste de pele leishmania</i>: 32/41 ou 78%; ELISA (PCR +): 37/41 ou 90%; LST (PCR+): 32/41 ou 78% Histopatologia: 26/35 ou 74%</p>	<p>As semelhanças entre <i>L. braziliensis</i> isolados e leishmaniose cutânea em cães e seres humanos em área endêmica de LT, levantam a possibilidade de um papel importante para os cães na cadeia de transmissão de <i>L. braziliensis</i>.</p>
Ramos et al., 2019/PE	<p>Títulos IIF (<i>L. (V.) braziliensis</i>) $\geq 40 = 6,2%$ Exame direto: 0/43 (sem no distrito de Três Ladeiras e formulários de amastigote); PCR 46,8% demonstrou que a PCR de sangue (59/126)</p>	<p>A presença de cães positivos para LCL (5/80); periférico é um método eficaz de detecção de <i>L. braziliensis</i> kDNA entre cães residentes em área endêmica.</p>

Cardoso et al., 2015/DF	PCR <i>L. (V.) braziliensis</i> e <i>L. (L.) amazonensis</i> = 0/19 (0%)	A participação de mamíferos silvestres no ciclo da <i>Leishmania</i> spp. em unidades de conservação do Distrito Federal do Brasil, ampliando o conhecimento sobre os ciclos enzoóticos dos tripanosomatídeos na savana brasileira. As espécies de <i>Leishmania</i> que infectam animais silvestres em unidades de conservação não eram as mesmas espécies que infectavam cães domésticos nas proximidades.
Lima et al., 2017/MT	ELISA= 4/114 (3,5%); Títulos iIF ≥ 40 = 2/114 (1,8%) SUDESTE (24)	As mesmas referências da Região Norte.
Barbosa et al., 1999/RJ	Títulos do IIF ≥ 40 = 7/215 (3,2%); Praia Grande, Graúna, Taquari. ELISA=22/215 (10,2%), Teste intradérmico=19/ 215 (8,8%), Exames parasitológicos diretos (impressão de apposicionamento, histopatologia e aspiração de vácuo) = 0/5	Que há transmissão ativa na área estudada, indicada pela soropositividade canina, mas considera necessário diversificar as áreas de pesquisa para chegar à relação entre a presença de humanos infectados e cães em uma área de colonização antiga.
Carvalhais et al., 2019/MG*	PCR conjuntival swab 30/349 (8.5%) <i>Leishmania</i> sp. = 4 <i>L. (L.) amazonensis</i> and 1 <i>L. (V.) braziliensis</i>	A identificação dos agentes de TL <i>L. amazonensis</i> e <i>L. braziliensis</i> em cães de áreas endêmicas urbanas de GNL está aumentando e entender o significado dessas infecções é fundamental para manter a atualização das abordagens epidemiológicas. O ITS1-nPCR associado ao HaeIII e rsal RFLP poderia contribuir para o diagnóstico adequado e identificação das espécies <i>leishmania</i> infectando a população de cães.
Ferreira et al., 2015/SP*	PCR: 8/ 8	Os resultados sugerem que as cepas polimórficas de <i>L. braziliensis</i> circulam no estado de São Paulo. Esses dados concordam com estudos de outras regiões do Brasil, mostrando grande variabilidade entre as populações naturais de focos endêmicos.
Figueiredo et al., 2009/RJ	Títulos IIF ≥ 40 = 10 % (n=18/177); ELISA = 10,7% positivo (n=19/177) e 5,6% indeterminado (n= 10/177); análise parasitológica (n=1/177 ou 0,5%)	Embora a região estudada não seja considerada endêmica para ATL, o levantamento sorológico realizado em cães mostrou alto percentual de animais positivos. O isolamento da <i>Leishmania</i> na cultura média e posterior identificação etiológica confirmam a circulação de <i>L. braziliensis</i> no bairro de Santa Rita de Cássia, município de Barra Mansa, RJ, exigindo estudos mais detalhados, principalmente sobre a fauna local de foletomina e sobre a exposição da população humana diante da infecção com esse parasita.
Gomes et al., 1990/SP	Título IIF ≥ 45 : (7/125 ou 5,6%); Pesquisa parasitológica (2/7 ou 2/125 ou 1,6% em canina residente em Pedra do Largo e análise microscópica, mas negativa em parcialmente teste de cultura)	Os quatro anos de estudo da população monitorados por cães sentinelas, não fizeram a circulação de <i>L. braziliensis</i> no ambiente doméstico

		Perceptível. Consequentemente, sugere uma enzootia muito frágil, ainda não garantindo ciclos estáveis do parasita. Isso deve ter sido muito afetado pelas atividades de controle de vetores nesta área.
Gomes et al., 2007/SP	PCR sangue: 5/114 (4.4%)	A PCR foi eficaz tanto para diagnóstico diferencial quanto para genotipagem. em que a inclusão da PCR no diagnóstico de leishmanioses pode ser uma ferramenta robusta para o diagnóstico precoce e ações oportunas. O conhecimento da espécie <i>Leishmania</i> também pode prevenir o abate de cães sem VL.
Gontijo e Carvalho, 2002/MG	Títulos iIF $\geq 40 = 30/148$ (20,3%); Pesquisa direta = 7/7 (100%)	<i>A leishmania</i> em amostras isoladas de cães mostrou uma caracterização bioquímica e molecular idêntica à obtida a partir de casos humanos não é evidência suficiente para incriminação como o reservatório da infecção.
Madeira et al., 2005/RJ	ELISA= 15/19 (78,9%); Títulos iIF $\geq 40 = L.$	<i>braziliensis</i> preferencialmente 14/19 (73,7%). O isolamento da <i>L.</i> permanece no local da lesão, em <i>braziliensis</i> na cultura foi positivo para contraste com a distribuição sistêmica de todas as 28 lesões de CL e negativo para parasitas observados em cães infectados
Madeira et al., 2006a/RJ*	Títulos iIF ≥ 40 (n = 66); <i>Leishmania</i> na cultura (n = 53/66 ou 80,3%); infecções mistas em cães no RJ e Isoenzimas para <i>L. (V.) braziliensis</i> (n = indicam a necessidade de complementar 12/53 ou 18,2%); Isoenzyme eletroforese a investigação de cães seroretivos - misturada de infecções de <i>L. (L.) chagasi</i> e <i>L. (V.) braziliensis</i> (n = 2/53 ou 3%)	Os resultados confirmam a existência de isolada na cultura (n = 53/66 ou 80,3%); infecções mistas em cães no RJ e Isoenzimas para <i>L. (V.) braziliensis</i> (n = indicam a necessidade de complementar 12/53 ou 18,2%); Isoenzyme eletroforese a investigação de cães seroretivos utilizando métodos para diagnóstico parasitológico e identificação de espécies <i>leishmania</i> .
Menezes et al., 2015/MG	DDP e ELISA: 33/570 ou 5,79%; Sangue LPCR: 45/ 570 ou 7,89% e desses 18 de também foram soropositivos. PCR-RFLP: 19/45 ou 42,22%.	Formiga pode ser considerada uma área da transmissão recente para LC e está em risco para CL. Ambos os vetores foram encontrados na cidade e <i>L. longipalpis</i> foi mais disperso do que <i>L. whitmani</i> , estando intimamente relacionado com casos humanos e caninos após análise espacial. Análises moleculares detectaram pela primeira vez a presença de <i>L. infantum</i> ou <i>L. braziliensis</i> circulando nos hospedeiros domésticos.
Oliveira et al., 2015/ RJ*	Cultura: fragmentos de lesão cutânea = 9/9 (100% positivo) e pele de saúde (0/9, 0%); kDNA de lesão cutânea = 9/9 (100%) e pele saudável = 3/9 (33,3%)	O PCR, com o uso de minicírculos de destino, combinado com a PCR: hibridização molecular como método confirmatório, mostrou-se uma ferramenta muito útil para a detecção do DNA de <i>L. (V.) braziliensis</i> na pele saudável de cães naturalmente infectados. Por fim, esclarecer a real importância dos cães no ciclo de transmissão da TL é de grande importância para a saúde pública, para que medidas efetivas de controle da doença possam ser definidas e protocolos específicos para o manuseio desses animais infectados possam ser estabelecidos.

Oliveira Neto et al., 1988/RJ*	Toda a cultura positiva (25); 2 isolamentos (<i>L. (V.) braziliensis</i> IIF)	Esta é uma área de infecção por <i>L. (V.) braziliensis</i> recentemente estabelecida e que a transmissão provavelmente ocorre dentro ou fora de casa perto da casa.
Passos et al., 1996/MG	Os títulos do IIF ≥ 40 20/617 (3,2%); 15 homens e 5 do sexo feminino ($p < 0,05$)	Observou-se a presença de pessoas infectadas e cães soropositivos próximos ou na mesma casa. Esse fato sugere alguma transmissão no ambiente domiciliar, sendo os cães um fator de risco para infecção humana naquela área urbana peri. O baixo percentual de cães soropositivos aponta para uma importância secundária desses animais na transmissão da leishmaniose nesse foco recente da doença.
Paz et al., 2018/MG	TL= 4/96 (4.1%) de IIF e DPP	Os achados mostram pela primeira vez que a reatividade cruzada entre <i>L. braziliensis</i> e <i>L. amazonensis</i> infecção em cães ocorre no teste de soro DPP. Este estudo também relata o primeiro registro confirmado de <i>Leishmania (L.) amazonense</i> no município de Belo Horizonte, MG, Brasil.
Quaresma et al., 2011/MG	IIF (título não informado) e ELISA para <i>Leishmania infantum</i> = 15/98 (15,3%); PCR (ITS1 e/ou hsp70): 2/11 (18,2%)	Os <i>L. braziliensis</i> , <i>L. (L.) infantum</i> e <i>L. guyanensis</i> estão circulando entre mamíferos silvestres e sinantrópicos presentes na Reserva Xakriabá, destacando a diversidade epidemiológica da ATL nesta região.
Santos et al., 1998/RJ	Isolamento de parasitas = 12/36 (33,3%); DHS = 105/270 (38,9%); Título IIF TL e <i>Leishmania maior</i> ≥ 40 = 66/270 (25,5%)	Há uma alta prevalência de infecção por doença entre cães das áreas estudadas, o que confirma as observações de que esses animais desempenham um papel importante na transmissão peri-domiciliar e doméstica da LCA. O uso do teste de pele é uma ferramenta útil a ser empregada em inquéritos epidemiológicos de campo da LCA.
Santos et al., 2005/RJ	PU = positivo ou suspeito 18/98 ou 18,4%; cães, MST (n=10/18 ou 55,5%); IIF (n= 8/18 ou 44,4%); ELISA (n= 18/11 ou cão em ATL, a descoberta do 61,1%). R = positivo ou suspeito 25/40 ou integumento canino leishmaniose nas 62,5% dos cães, MST (n=9/25 ou 36%), IIF formas sintomáticas e subclínicas (n= 15/25 ou 60%); ELISA (n=18/25 ou observadas em ambas as áreas, onde 72%). <i>In vitro</i> parasitológico = 2 (1/18 ou também ocorreu casos humanos, sugere 5,5% e 1/25 ou 4%); <i>In vivo</i> parasitológico que o cão pode desempenhar algum papel na transmissão da cadeia de suprimentos do ATL em Paracambi.	
Santos et al., 2007/RJ	Cultura parasitológica = 33/74 ou 44,6%; títulos do IIF ≥ 40 = 24/33 ou 72,7%; laboratoriais, o diagnóstico diferencial Citopatológico = 22/7 ou 31,8%; MST = 5/7 ou 71,4%;	Devido à falta de diferenças clínicas e entre esporotricose e ATL em cães deve ser feito com base na demonstração dos respectivos agentes etiológicos no material obtido a partir das lesões cutâneas.

Savani et al., 1999/SP	Títulos IIF $\geq 40 = 0/973$ (0%)	Os resultados sorológicos negativos encontrados na amostra sugerem que os cães de rua teriam menos exposição ao ciclo selvagem do parasita, portanto, menos chance de serem infectados com <i>Leishmania</i> sp. e, portanto, teriam um papel epidemiológico quase irrelevante como fonte de infecção.
Serra et al., 2003/RJ	Títulos IIF $\geq 40 = 11/83$ (13,2%); ELISA = 30/83 (36,1%); Isolamento de parasitas em vistas na Morada das Águias pode ser 16/11 (68,7%)	O elevado número de casos caninos consequência de uma ocupação desordenada da terra, causando modificação abrupta da paisagem original, favorecendo a ocorrência do efeito marginal, com formação da autóctone, Apesar da ocorrência de doença canina na região, também é possível enquadrá-los para casos humanos. A presença perto das casas de animais silvestres como gambás, ouriço, rato de mato.
Uchôa et al., 2001/RJ	Títulos IIF $\geq 40 = 1/261$ (0,4%), ELISA (corte de 1) = 64/261 (24,5%), ELISA (corte 2) = 18/261 (6,9%)	
Willi et al., 2017/RJ	Títulos IIF $\geq 40 = 49/189$ (25,9%)	Cães do leste do estado do Rio de Janeiro mostraram-se em risco de serem infectados por parasitas com risco de vida evitáveis com potencial zoonótico. Esses dados também fornecem evidências que permitem aos veterinários aconselhar seus clientes a usar tratamentos de controle preventivos adequados e eficazes para seus animais de estimação, especialmente quando viajam para áreas de alto risco e para testar rotineiramente seus pacientes para parasitas.
SUL (19)		
Benitez et al., 2018/PR	ELISA 32/729 (4.4%)	Maior exposição ao cão quando comparada à exposição ao proprietário, e maior risco de infecção em cães domiciliados que vivem até 500 metros da ferrovia local. Nesse cenário urbano, as barreiras sanitárias locais devem ser focadas em rotas terrestres para as pessoas e arredores, especialmente ao longo das ferrovias locais, pois essas áreas podem fornecer condições ambientais favoráveis para a manutenção de flebotominas infectadas.
Castro et al., 2005/PR	24/159 (15,1%) em ELISA (24/7 ou 29,2% disso confirmado no teste IIF - títulos $\geq 1:40$)	
Castro et al., 2007/PR	Cultura = 13/28 (46,4%); ELISA = 57/410 (13,9%); (R1), 10/159 (6,2%) ; (R2), 8/ 39 (20.5%); (R3), 39/212 (18,4%)	Os cães não são bons reservatórios para <i>L. braziliensis</i> .

Cerino et al., 2010/PR	Títulos IIF $\geq 40 = 11/166$ (6,6%); Sangue PCR= 4/167 (2,4%) tinha títulos inferiores a 40 através do IIF	A presença de anticorpos <i>anti-Leishmania braziliensis</i> e DNA do complexo <i>L. braziliensis</i> em cães nesta área urbana perto de um parque florestal nativo indica a importância de acompanhar esses cães para confirmar o diagnóstico da LCL.
Constantino et al., 2016/PR	Títulos IIF $\geq 40 = 13/191$ (6,81%)	A presença de anticorpos <i>anti-Leishmania</i> spp. IgG em cães residentes em Telêmaco Borba, sugerindo a presença do parasita e vetor no ambiente. Além disso, a existência de folhas empilhadas ou compostagem no quintal, áreas florestais próximas à residência e lesões epidérmicas em cães são fatores associados à infecção por <i>Leishmania</i> em cães de estimação
Costa et al., 2016/PR	Títulos IIF (<i>L. amazonensis</i>) $\geq 40 = 13/135$ (9,6%)	A presença de <i>Leishmania</i> spp. protozoários nos dois ambientes diferentes estudados em Londrina, e indicam o potencial de infecção na população humana.
Heusser-Júnior et al., 2010/SC	Títulos IIF $\geq 40 = 3/275$ ou 1,09%; ELISA= 4/275 ou 1,45%; Ambos=13/275 ou 4,73%; MST: 5/275 ou 1,81%	Os resultados da pesquisa sorológica provavelmente se devem ao período imunológico em que a infecção canina foi encontrada na área estudada, evidenciando um processo de transmissão recente. Devido à proximidade de residências com floresta nativa, cães e pessoas poderiam estar sendo infectados pelo vetor de picada de insetos com formas obtidas em reservatórios, que poderiam ser, pelo menos por enquanto, apenas animais silvestres.
Jesus et al., 2006/RS	Títulos IIF $\geq 40 = 7/200$ (3,5%); 6 M/1F	Foi evidenciado que os machos são 7 vezes mais predispostos a esta infecção do que as fêmeas. A presença humana mais a detecção de anticorpos <i>leishmania</i> na população canina, demonstra que a participação dos cães ocorre no ciclo epidemiológico dessa doença no foco urbano da Estrada do Rincão.
Lonardoni et al., 2006/ PR	Títulos IIF $\geq 40 = 24/126$ ou 19,05%. 6/20 amostras foram <i>Leishmania</i> isolada em lesão.	A área onde os casos ocorreram é semelhante a outras na colonização antiga no Estado do PR, acredita-se que as mudanças ambientais e as florestas remanescentes proporcionam a manutenção do ciclo do parasita e a transmissão para humanos e animais domésticos, mantendo o caráter endêmico da LCA.
Ludwig et al., 2016/PR	Títulos IIF <i>L. amazonensis</i> $\geq 40 = 4/175$ (2,3%)	A presença de <i>Leishmania</i> spp. circulando na região, sugerindo o papel dos cães como reservatórios para leishmaniose cutânea americana, e

	fornecem importantes indicações do movimento de espécies relacionadas à CL na região de Toledo.
<p>Marquez et al., 2017/PR PCR: (3/8 ou 37,5%) dos cães testados O uso de pele intacta, sangue, medula positivos em biópsias de pele e baço óssea e órgãos internos provou eficiente intactas; (4/8 ou 50%) apresentaram para o diagnóstico de leishmaniose por fragmentos amplificados de DNA PCR e suas variantes. Cães <i>leishmania</i> no sangue; (5/8 ou 62,5%) assintomáticos devem ser monitorados biópsias hepáticas e linfonodos deram em áreas onde casos humanos foram positivo; (7/8 ou 87,5 %) DNA parasita foi relatados. <i>L. braziliensis</i> foi transferido detectado na medula óssea; (8/8 100%) da pele para os órgãos internos através dabiópsias de pele lesionadas foram positivas corrente sanguínea, aumentando a pela PCR.</p>	<p>exposição dos cães ao vetor, o que poderia indicar uma participação significativa no ciclo protozoário. Em geral, os cães não apresentaram alterações clínicas significativas além das lesões cutâneas e pareciam saudáveis. Esses achados sugerem que cães em áreas endêmicas sem sintomas clínicos patológicos podem estar carregando o parasita.</p>
<p>Massunari et al., 2009/PR Busca direta por parasita na lesão: 0/2; (i) IIF ≥ 40: 25/146 ou 17,12%; PCR <i>leishmania</i> (<i>V.</i>) lesões entre os animais na lesão: 2/2 ou 100%; PCR no sangue: estudados; (ii) Não foi detectada a 0/149</p>	<p>Ainda há portadores de cães de Títulos disseminação hematogena do parasita nos cães; (iii) o teste de sorologia mostrou que a prevalência de <i>anticorpos anti-L. braziliensis</i> permaneceu nos mesmos níveis detectados anteriormente na mesma localidade, o que indica infecção subclínica ou infecção passada nesses animais; (iv) o seguimento realizado em um grupo de cães mostrou que em alguns deles a lesão pode permanecer ativa por mais de três anos; e (v) as medidas adotadas de controle de infecções parecem ter contribuído para o controle da transmissão da LCA na área em estudo. Os cães têm um papel secundário no ciclo de transmissão do parasita.</p>
<p>Membrive et al., 2017/PR Títulos IIF ≥ 40 = 0/10; Busca direta de parasitas em cães: 1/10 ou 10%</p>	<p>Embora não tenha sido encontrado um teste positivo para <i>Leishmania</i>, a vigilância epidemiológica deve ser mantida, lembrando que os edifícios humanos estão situados a apenas 50 metros da floresta. Considerando as espécies de animais silvestres e moscas de areia encontradas em São Domingos, o teste negativo encontrado não exclui a existência do ciclo de transmissão da <i>Leishmania</i> nesta área de preservação.</p>
<p>Membrive et al., 2012/PR IIF: 74/1103 (6,7%); 25/30 cães de biópsia A infecção por ACL canina aumentam o (83,3%) apresentaram amastigotes de risco de infecção humana nos locais <i>Leishmania sp.</i> no exame parasitológico estudados no município de Arapongas direto. - A análise da PCR foi positiva em (região norte do PR) e as características 25/30 cães (83,3%)</p>	<p>da área ao redor do domicílio aumentam o risco de LCA tanto em humanos quanto</p>

		em cães. A gestão ambiental integrada envolvendo tanto os governos estaduais e municipais como a população em ações preventivas, corretivas e educativas poderia constituir uma medida profilática, ajudando a evitar o contato entre humanos e flebotomias.
Pittner et al., 2009/PR	Títulos IIF $\geq 40 = 12/50$ (24%); Sangue PCR= 12/50 (24%)	A presença de animais com infecção assintomática de <i>Leishmania</i> em uma área onde a ATL é endêmica pode ser um indicador do potencial de sua transmissão para humanos e referência para a implementação de medidas de controle e prevenção da doença.
Silva Filho et al., 2012/PR	Títulos IIF $\geq 40 = 14/169$ (8,2%)	Há uma alta disseminação de <i>T. gondii</i> em ambas as espécies e a ocorrência de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> spp. em humanos e cães indicam que há transmissão de <i>Leishmaniaspp.</i> nessas localidades. A soropositividade para <i>Leishmania</i> spp. em humanos e cães, pode ser devido a uma transmissão peridomestica, com forte influência pela proximidade com as florestas.
Soccol et al., 2009/PR	ELISA = 31/9 (29%); Sangue PCR-RAPD= 1/31 (3,2%)	Considerando esse cenário ecodemiológico, exerce-se pressão sobre a espécie <i>Leishmania</i> , principalmente sobre <i>L. braziliensis</i> . Por apresentar um alto grau de variabilidade genética, esta espécie pode infectar um número maior de vetores e mamíferos. Tal plasticidade permite o aparecimento de novas áreas de transmissão envolvendo diferentes espécies de vetores e reservatórios..
Velasquez et al., 2006/PR	Busca direta de parasitas (raspagem e/ou biópsia) = 5/39 (12,8%); PCR = 10/ 13 (76,9%) raspagens, 8/13 (61,5%) biópsias, 1/3 linfonodo, 38/10 (26,3%) sangue; Títulos IIF $\geq 40 = 17/101$ (16,8%)	Na região estudada, a LCA humana e canina ocorre simultaneamente, o que tem sido relatado em outras áreas endêmicas. A presença de cães infectados com <i>Leishmania sp.</i> , associado à sorologia positiva mostra que o parasita está circulando nas áreas onde o estudo foi realizado.
Zanzarini et al., 2005/PR	Teste parasitológico direto = 3/14 (21,4%); Títulos IIF $\geq 40 = 38/67$ (56,7%)	Os resultados do trabalho mostraram que na região estudada, a LCA humana e canina ocorre simultaneamente, o que tem sido relatado em outras áreas endêmicas. A presença de cães infectados com <i>Leishmania sp.</i> , associado à sorologia positiva mostra que o parasita está circulando nas áreas onde o estudo foi realizado.

Em resumo, todas as regiões do Brasil relataram casos de leishmaniose tegumentar canina, principalmente em cães residentes em áreas urbanas e domésticos (33 estudos), e alguns de origem rural (28), sendo que três foram realizados em cães de população indígena (Tabela suplementar do *draft* do artigo).

Alguns estudos não reportaram a origem dos cães ou não ficou claro (FERREIRA et al., 2015; GONTIJO et al., 2006; MADEIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2015; WILLI et al., 2015). Observa-se neste estudo, ao longo dos anos, que houve uma expansão no padrão de transmissão da doença de ambientes rurais e periurbanos para urbanos. Em ambiente rural, 18/59 estudos investigaram a LTCan (CUBA CUBA et al., 1985; CUNHA et al., 2006; FOLLADOR et al., 1999; LAGO et al., 2019; LEÇA JÚNIOR et al., 2015; SHERLOCK et al., 1996; FIGUEIREDO et al., 2009; GOMES et al., 1990; QUARESMA et al., 2011; CASTRO et al., 2005; LONARDONI et al., 2006; MARQUEZ et al., 2017; MASSUNARI et al., 2009; MEMBRIVE et al., 2017; MEMBRIVE et al., 2012; SILVA FILHO et al., 2012; VELASQUEZ et al., 2006; ZANZARINI et al., 2005), e periurbanas (7/59) (BARRETTO et al., 1984; BRANDÃO-FILHO et al., 1994; BARBOSA et al., 1999; OLIVEIRA NETO et al., 1988; SANTOS et al., 1998; SERRA et al., 2003; SOCCOL et al., 2009). Sendo reportada em centros urbanos por 17/59 estudos (CARVALHO et al., 2015; CARVALHAIS et al., 2019; FALQUETO et al., 1986; GOMES et al., 2007; MADEIRA et al., 2006; MENEZES et al., 2015; PASSOS et al., 1996; PAZ et al., 2018; SANTOS et al., 2007; SAVANI et al., 1999; BENITEZ et al., 2018; CONSTANTINO et al., 2014; COSTA et al., 2016; HEUSSER- JÚNIOR et al., 2010; JESUS et al., 2006; LUDWIG et al., 2016; PITTNER et al., 2009) e em ambas as áreas urbanas/peri e rural 8/59 (BASANO et al., 2016; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2016; RAMOS et al., 2019; CARDOSO et al., 2015; SANTOS et al., 2005; CASTRO et al., 2007; CERINO et al., 2010). Em áreas indígenas, três estudos verificaram a prevalência de LTCan (BASANO et al., 2016; LIMA et al., 2017; QUARESMA et al., 2011). Estes resultados corroboram com a alteração do perfil de transmissão de LT em humanos, este fenômeno é reportado na literatura como: A urbanização da leishmaniose tegumentar. A ampla distribuição geográfica da LT, o aumento de sua incidência, à tendência de crescente avanço para a área urbana é identificado com uma tendência que necessita de investigação para a tomada de decisões relacionadas os enfrentamentos da doença (SCHEINFELD, 2003; MIOT, 2005; WEN 2003)

Em relação ao diagnóstico laboratorial, a sorologia por imunofluorescência indireta para a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* foi realizada pela maioria dos estudos (44/59),

sendo o antígeno de *L. braziliensis* o mais empregado (Tabela suplementar). Para a identificação das espécies de *leishmania*, a reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para detecção do parasito na lesão ou sangue por 25/59 estudos (Tabela suplementar do *draft* do artigo), sendo que o alvo kDNA do minicírculo de *Leishmania* um dos mais investigados (14/25). Os outros alvos da PCR foram o gene de RNA (por exemplo SSU rRNA), proteína de choque térmico hsp70, a região ITS1 (*internal transcribed spacer 1*). A técnica de ELISA foi realizada por 17 estudos. O método parasitológico direto para a pesquisa do parasito na lesão foi realizado por 17/59 estudos (Tabela 1). Os outros testes realizados foram cultura do material da lesão em meio NNN, inoculação em hamster, perfil isoenzimático, teste rápido, sequenciamento, histopatológico.

A espécie *L. braziliensis* foi a mais prevalente no Brasil, sendo reportada por 36 estudos/59 e distribuída em todas as regiões (Tabela suplementar do *draft* do artigo). Seguido de *L. amazonensis* que foi reportada por seis estudos nos estados do TO, DF, MT, MG e PR. *L. guyanensis* foi relatada por dois estudos, um no estado do Pará que faz parte da área geográfica da espécie e um no estado de São Paulo, local de grande fluxo migratório que pode ser um indicativo de alterações da transmissão da doença devido a movimentos migratórios (FERREIRA et al., 2015; SANTOS et al., 2020). Os demais estudos não caracterizaram a espécie de *Leishmania* infectante e foram reportados como *Leishmania* spp (Tabela 1).

A uma grande parte dos estudos (29/59) destacou a possibilidade de um papel importante da cadeia de transmissão de *L. braziliensis* por cães para humanos, uma vez que alberga o parasito e mantém o ciclo entre os hospedeiros vertebrados e invertebrados (BARRETTO et al., 1984; CARVALHAIS et al., 2019; CUBA CUBA et al., 1985; CUNHA et al., 2006; FALQUETO et al., 1986; FOLLADOR et al., 1999; LAGO et al., 2019; LEÇA JÚNIOR et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2015; PASSOS et al., 1996; SANTOS et al., 1998; SANTOS et al., 2005; SAVANI et al., 1999; SERRA et al., 2003; WILLI et al., 2017; BENITEZ et al., 2018; CONSTANTINO et al., 2014, COSTA et al., 2016; JESUS et al., 2006; LUDWIG et al., 2016; MARQUEZ et al., 2017; MASSUNARI et al., 2009; MEMBRIVE et al., 2012; PITTNER et al., 2009; SILVA FILHO et al., 2012; SOCCOL et al., 2009; VELASQUEZ et al., 2006; ZANZARINI et al., 2005) (Tabela 1).

Com essa revisão sistemática e a meta-análise, é possível evidenciar o papel importante do cão na cadeia de transmissão da leishmaniose tegumentar, sendo o animal doméstico de maior risco. Destaca-se que desde 1984 até os dias atuais, os pesquisadores do

Brasil evidenciam a relação entre a disseminação da doença com a ausência de políticas públicas que impeçam a continuidade do ciclo de transmissão da doença.

3.1 METANÁLISE

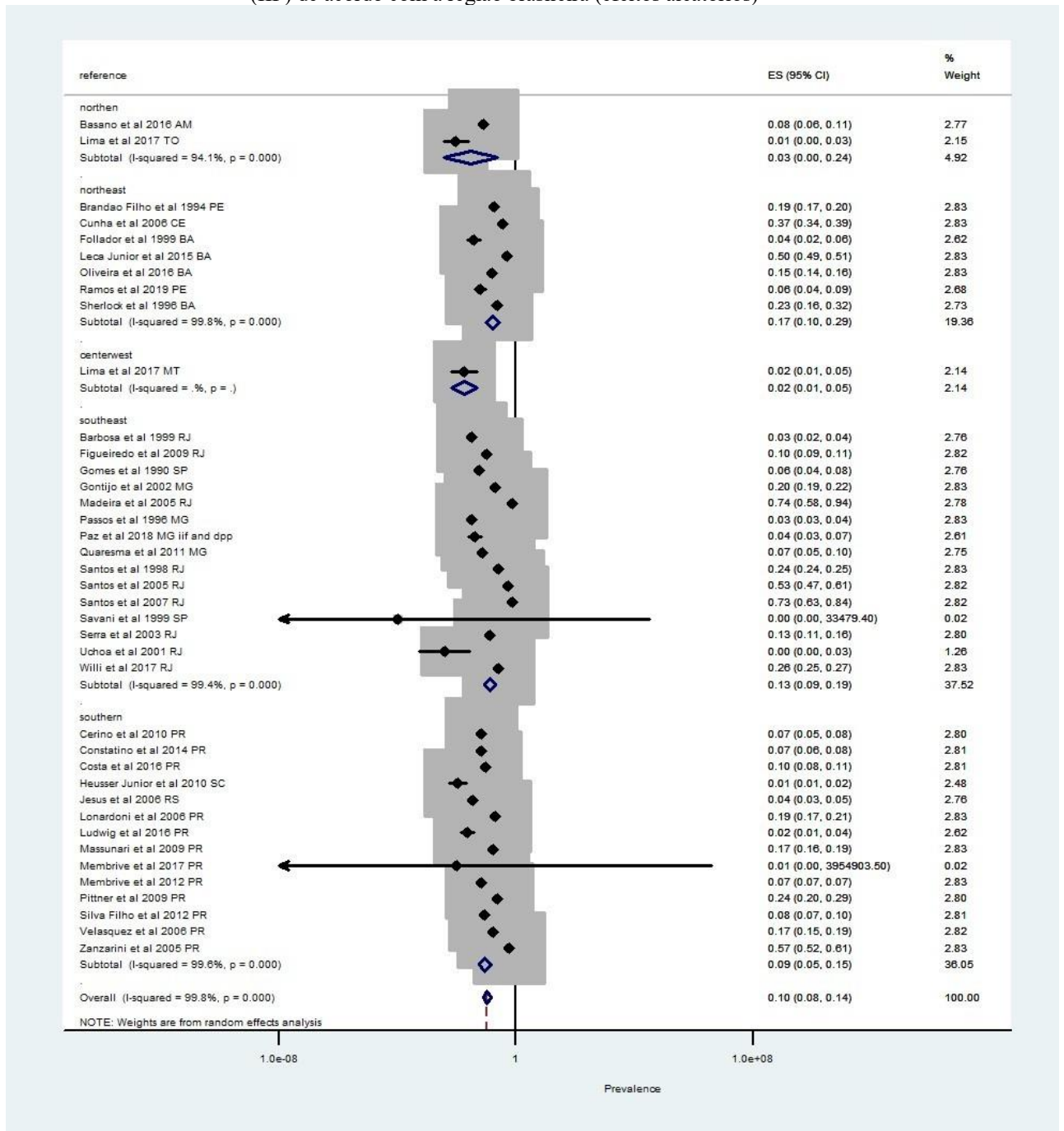
Para meta-análise, 53 estudos foram incluídos. A prevalência agrupada de LTCan foi determinada por testes sorológicos, moleculares e parasitológicos. Um total de 38 estudos aplicaram imunofluorescência indireta (IFI) (BARBOSA et al., 1999; BASANO et al., 2016; BRANDÃO-FILHO et al., 1994; CERINO et al., 2010; CONSTANTINO et al., 2014; COSTA et al., 2016; CUNHA et al., 2006; FOLLADOR et al., 1999; GOMES et al. 1990; GONTIJO et al., 2002; HEUSSER-JUNIOR et al., 2010; LEÇA-JÚNIOR et al., 2015 ; LIMA et al., 2017; LONARDONI et al., 2006; LUDWIG et al., 2016; MASSUNARI et al., 2009; MEMBRIVE et al., 2012; MEMBRIVE et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2016; RAMOS et al., 2019; SHERLOCK et al., 1996; FIGUEIREDO et al., 2009; MADEIRA et al., 2005; PASSOS et al., 1996; PAZ et al., 2018; PITTNER et al., 2009; QUARESMA et al., 2011; SANTOS et al., 1998; SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2007; SAVANI et al., 1999; SERRA et al., 2003; SILVA-FILHO et al., 2012; UCHOA et al., 2001; VELASQUEZ et al., 2006; WILLI et al., 2017; ZANZARINI et al., 2005).

Um total de 17 artigos detectaram infecção por *Leishmania* usando ensaios imunoenzimáticos (ELISA) (BARBOSA et al., 1999; BENITEZ et al., 2018; CARVALHO et al., 2015; CASTRO et al., 2005; CASTRO et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2009; FOLLADOR et al., 1999; HEUSSER-JUNIOR et al., 2010; LAGO et al., 2019; LIMA et al., 2017; MADEIRA et al., 2005; MENEZES et al., 2015; QUARESMA et al., 2011; SANTOS et al., 2005; SERRA et al., 2003; SOCCOL et al., 2009; UCHOA et al., 2001). Em 17 estudos científicos utilizaram busca parasitológica direta em lesão (ou tecido) da pele (BARBOSA et al., 1999; BARRETO et al., 1984; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; BRILHANTE et al., 2019; CARVALHO et al. , 2015; FALQUETO et al., 1986; FIGUEIREDO et al., 2009; GOMES et al., 1990; GONTIJO et al., 2002; LAGO et al., 2019; LEÇA-JÚNIOR et al., 2015; MASSUNARI et al. , 2009; MEMBRIVE et al., 2012; MEMBRIVE et al., 2017; SANTOS et al., 1998; SANTOS et al., 2007; VELASQUEZ et al., 2006; ZANZARINI et al., 2005).

Um total de 14 estudos utilizaram a reação em cadeia da polimerase (PCR) no sangue para detecção de leishmaniose (BRILHANTE et al., 2019; CARDOSO et al., 2015; CARVALHO et al., 2015; CERINO et al., 2010; GOMES et al., 2007; MARQUEZ et al., 2017; MASSUNARI et al., 2009; MENEZES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; PITTNER et al., 2009; RAMOS et al., 2019; SANTOS et al., 2020; SOCCOL et al., 2009; VELASQUEZ et al., 2006). Oito estudos investigaram a infecção em lesão de pele/tecido por PCR (BRILHANTE et al., 2019; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; LAGO et al., 2019; QUARESMA et al., 2011; MARQUEZ et al., 2017; MASSUNARI et al., 2009; MEMBRIVE et al., 2012; PITTNER et al., 2009; VELASQUEZ et al., 2006).

Além disso, a análise por região brasileira também foi realizada de acordo com cada diagnóstico laboratorial. Pelos métodos IIF, a prevalência de LTCan foi de 10% no Brasil (IC95% 8-24; i_2 99,8%, $p < 0,001$) (Figura 12). As regiões Nordeste (17%), Sudeste (13%) e Sul (9%) e Norte (8%) apresentaram prevalências agregadas significativas ($p < 0,001$) e heterogeneidade ($i_2 > 90\%$) (Figura 12). Apenas um estudo relatou a prevalência no Centro-Oeste (Lima et al., 2017).

Figura 12 – Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina pelo teste de imunofluorescência indireta (IIF) de acordo com a região brasileira (efeitos aleatórios)



Ao lado esquerdo do gráfico constam as referências dos estudos incluídos na metanálise (autor, ano de publicação e estado). A prevalência de LTCa estimada em cada estudo está representada pelo quadrado e o círculo em preto, seguido dos valores e seus intervalos de confiança 95% entre parêntese, e o peso de cada estudo na metanálise é apresentado pela porcentagem representada ao lado direito do gráfico. A linha vertical contínua representa a prevalência de 100% e linha tracejada representa o efeito sumário dos resultados agrupados de todos os estudos. O diamante representa este efeito sumário e o seu valor foi calculado a partir da análise do efeito randômico. No gráfico ainda são apresentados os valores de p do teste estatístico e a heterogeneidade do I^2 .

Fonte: Elaboração própria utilizando software StataTM version 14.0.

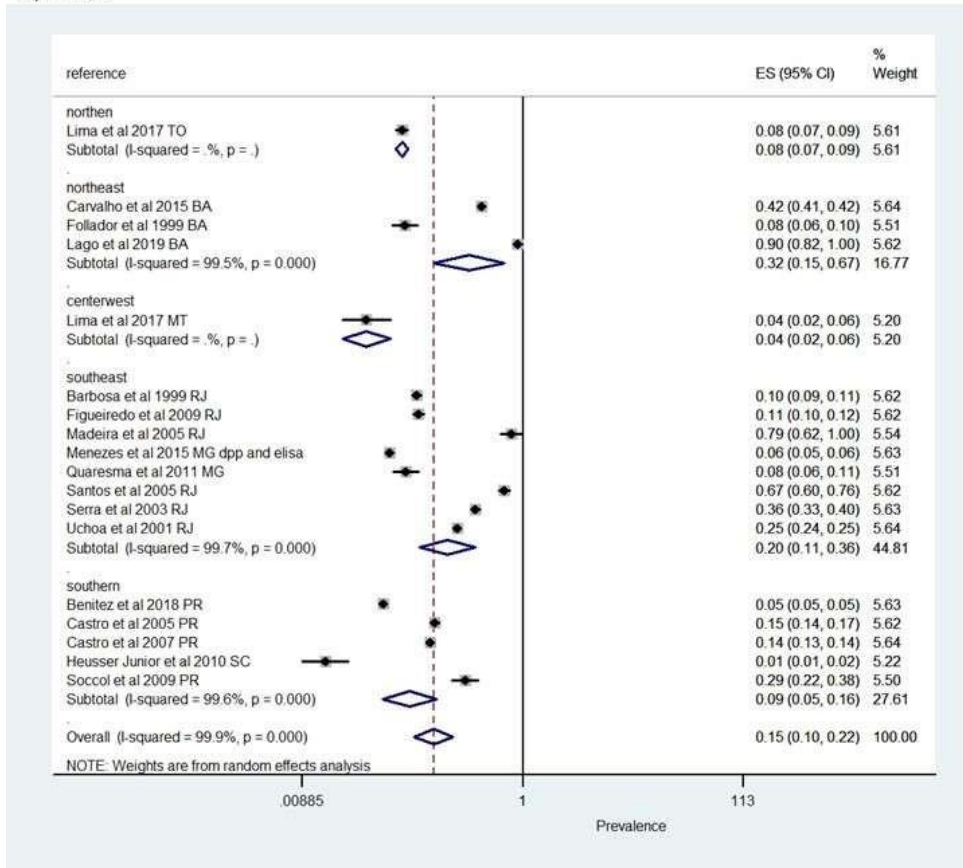
Utilizando métodos ELISA, a prevalência de LTCan Brasil foi de 15% (IC95% 10-22%; $I^2=99,9$, $p<0,001$) (Figura 13A). As regiões Nordeste (32%), Sudeste (20%) e Sul (9%) apresentaram prevalências agregadas significativas ($p<0,001$) e heterogeneidade ($I^2>90\%$). Apenas um estudo relatou a prevalência no Centro-Oeste (4%) e Norte (8%) (Lima et al., 2017) (Figura 12A).

Na busca direta do parasita (referência, teste padrão-ouro), a prevalência do LTCan Brasil foi de 21% (IC95% 14-31%; $i^2=98,3$, $p<0,001$) (Figura 13B). As regiões Sul (24%), Sudeste (23%) e Nordeste (13%) apresentaram prevalências agregadas significativas ($p<0,001$) e heterogeneidade ($i^2>90\%$) (Figura 13B). Apenas um estudo relatou a prevalência na região Norte que foi de 0% (BRILHANTE et al., 2019).

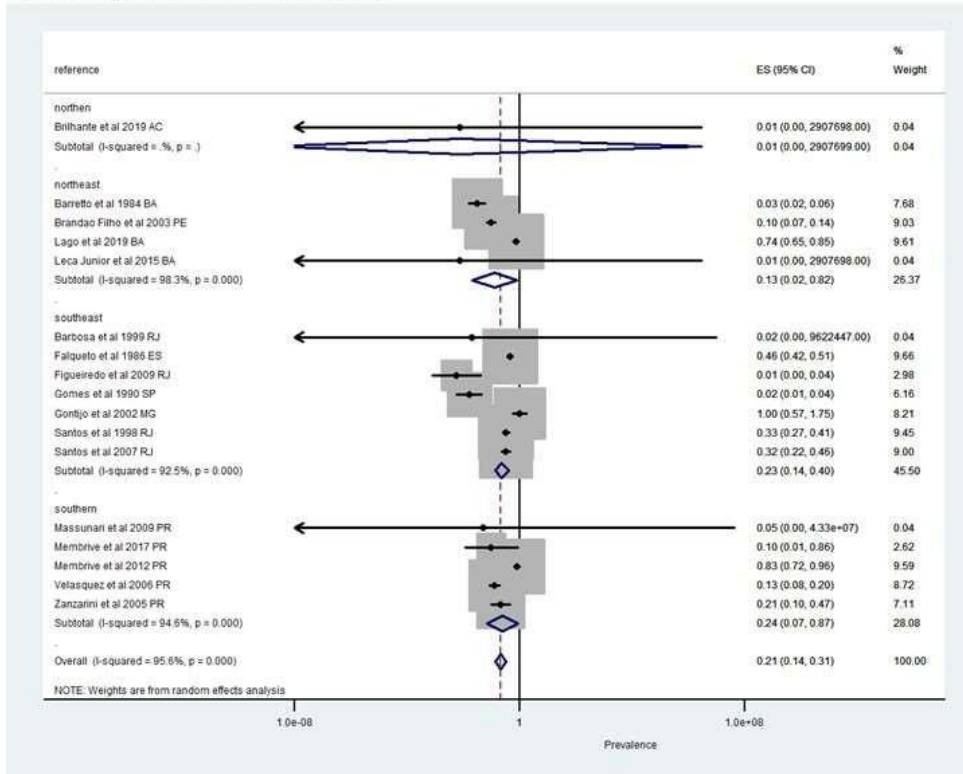
Alguns estudos realizaram PCR para identificar a infecção por *Leishmania* e as espécies parasitárias no sangue (Figura 14A) e na lesão (Figura 14B). A prevalência geral de LTCan no sangue foi estimada em 19% (IC95% 12-31%; $i^2=99,9$; $p<0,001$) (Figura 14A). O Nordeste apresentou a maior prevalência (38%), seguido do Sul (14%) e Sudeste (6%) ($p<0,001$; $i^2>85\%$). As regiões Norte e Centro-Oeste apresentaram dois e um estudo, respectivamente.

Figura 13 - Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina por ensaio imunoenzimático (ELISA) e busca direta do parasita no tecido da lesão segundo a região brasileira (efeitos aleatórios)

A) ELISA



B) Parasite direct search in lesion/tissue



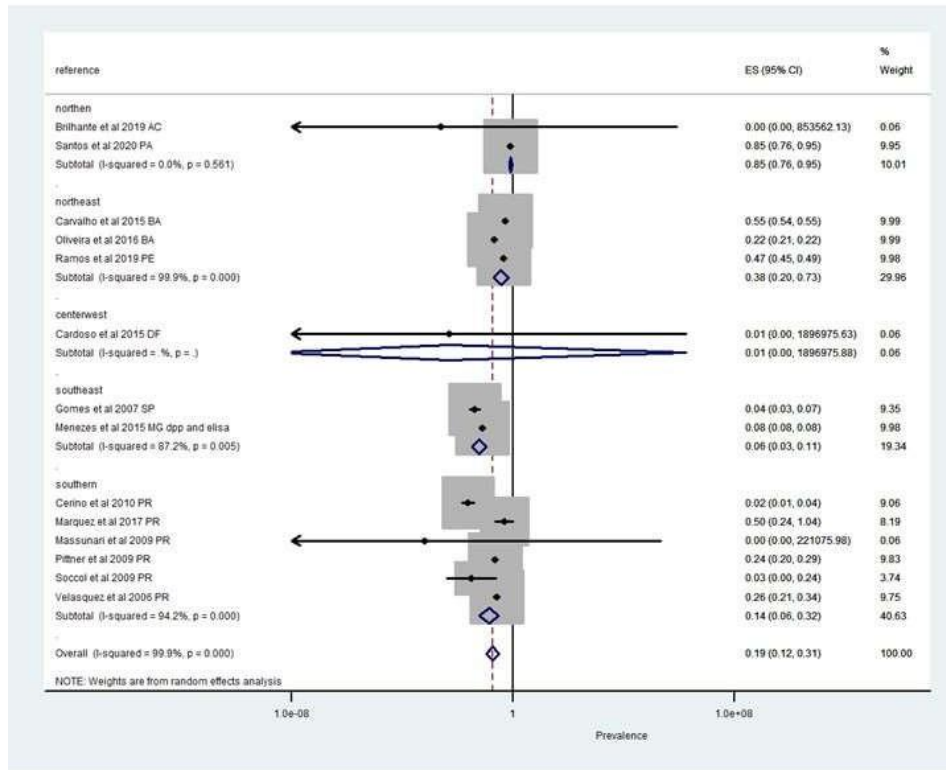
Ao lado esquerdo do gráfico constam as referências dos estudos incluídos na metanálise (autor, ano de publicação e estado). A prevalência de LTCan estimada em cada estudo está representada pelo quadrado e o círculo em preto, seguido dos valores e seus intervalos de confiança 95% entre parêntese, e o peso de cada estudo na metanálise é apresentado pela porcentagem representada ao lado direito do gráfico. A linha vertical contínua representa a prevalência de 100% e linha tracejada representa o efeito sumário dos resultados agrupados de todos os estudos. O diamante representa este efeito sumário e o seu valor foi calculado a partir da análise do efeito randômico. No gráfico ainda são apresentados os valores de p do teste estatístico e a heterogeneidade do I^2 .

Fonte: Elaboração própria utilizando software StataTM version 14.0.

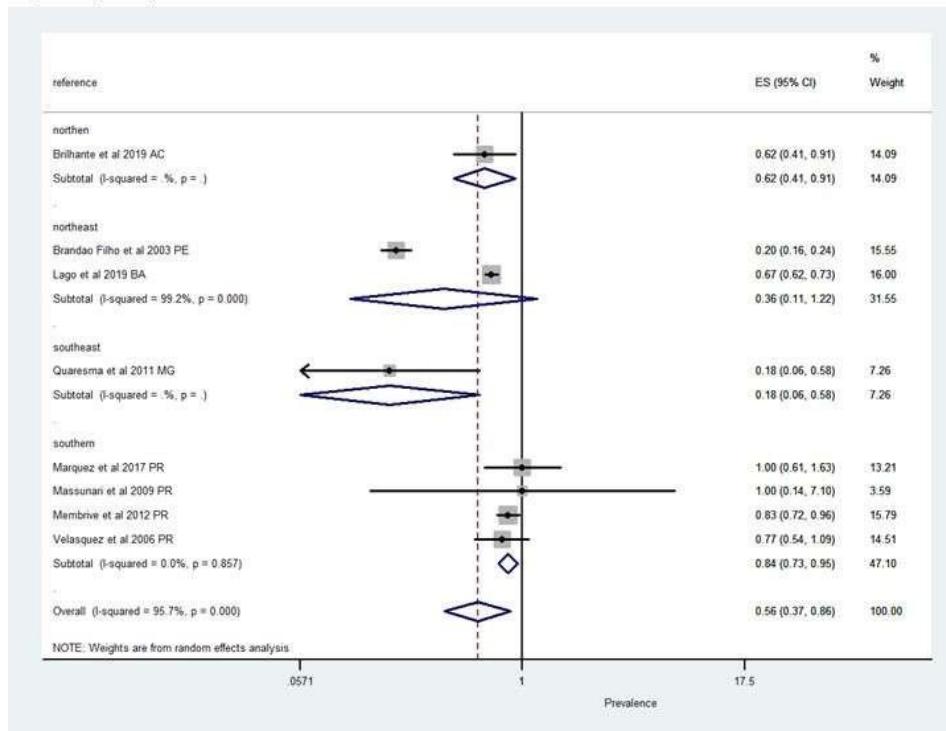
Comparado a todos os métodos, a PCR em lesões apresentou a maior prevalência de LTCan (56%; IC95% 37-86%; $i^2=95,7\%$; $p<0,001$) (Figura 14). A região Sul apresentou prevalência significativa (84%) e a região Nordeste (36%) ($p<0,001$; $i^2>95\%$). Na região Norte, Brilhante et al., (2019) detectaram uma prevalência de 62%, e a região Sudeste apresentou um estudo com prevalência de 18% (QUARESMA et al., 2011). Estes resultados já são esperados uma vez que de acordo com o Ministério da Saúde: a detecção de DNA em sangue periférico constitui método não-invasivo para o diagnóstico da Leishmaniose, com sensibilidade de 94% e especificidade de 100%, devendo ser considerado como método de primeira linha, em serviços cuja infraestrutura permita a execução da técnica (BRASIL,2006). Variações significativas na técnica PCR, podem ser ocasionadas principalmente pelo iniciador direcionado a diferentes alvos moleculares, número de ciclos empregados na reação, métodos de extração do DNA e origem do material biológico (MAIA et al. 2009; SOLANO-GALLEGO et al. 2009)

Figura 14 - Prevalência conjunta da leishmaniose tegumentar canina aplicando a reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue (A) e lesões (B), de acordo com a região brasileira (efeitos aleatórios)

A) PCR (blood)



B) PCR (lesion)



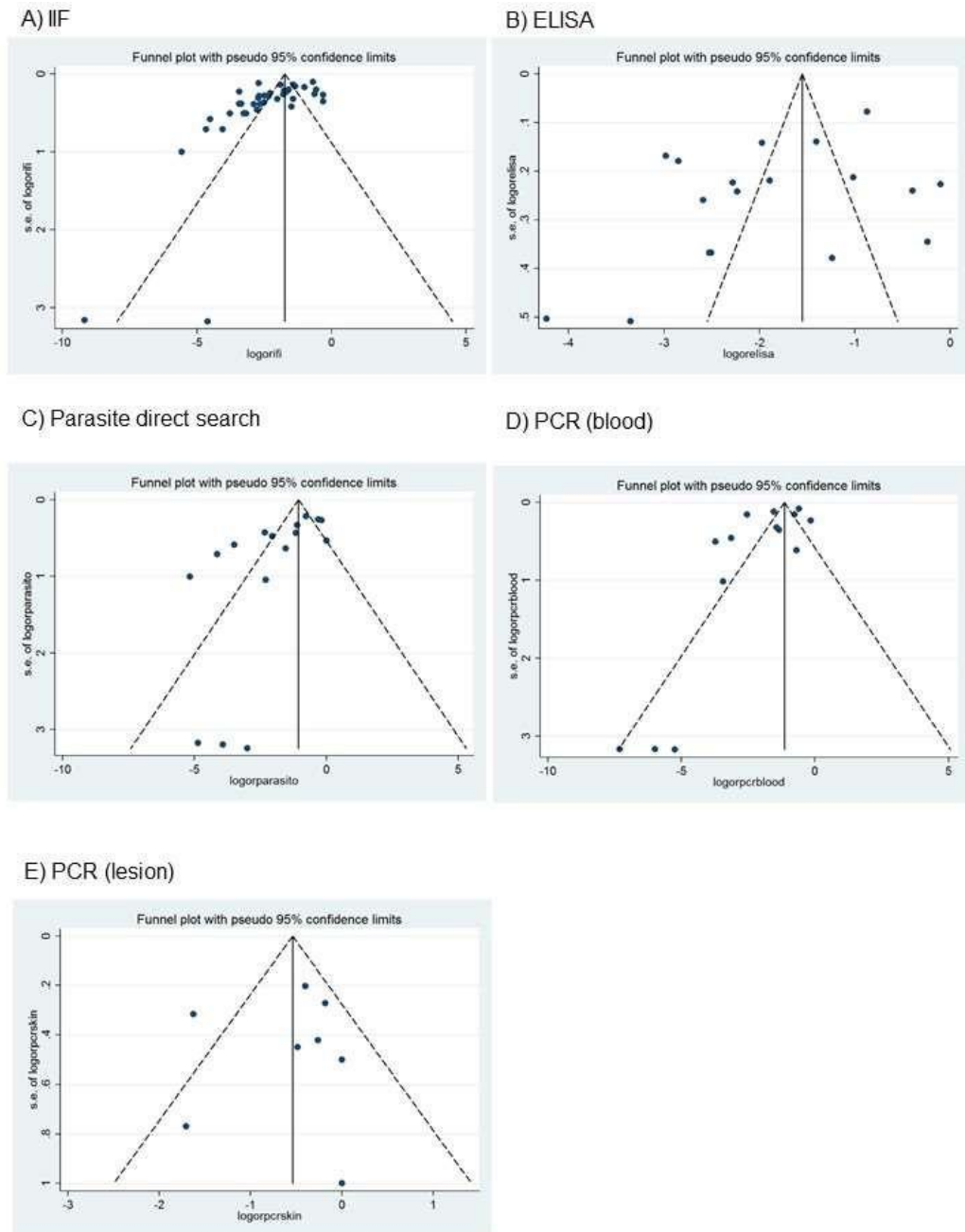
Ao lado esquerdo do gráfico constam as referências dos estudos incluídos na metanálise (autor, ano de publicação e estado). A prevalência de LTCan estimada em cada estudo está representada pelo quadrado e o círculo em preto, seguido dos valores e seus intervalos de confiança 95% entre parêntese, e o peso de cada estudo na metanálise é

apresentado pela porcentagem representada ao lado direito do gráfico. A linha vertical contínua representa a prevalência de 100% e linha tracejada representa o efeito sumário dos resultados agrupados de todos os estudos. O diamante representa este efeito sumário e o seu valor foi calculado a partir da análise do efeito randômico. No gráfico ainda são apresentados os valores de p do teste estatístico e a heterogeneidade do I^2 .

Fonte: Elaboração própria utilizando software StataTM version 14.0.

O viés de publicação foi detectado apenas para os resultados do IIF (valor p dos testes de Egger e Begg = 0,001) (Figura 15).

Figura 15 - Gráfico de funil com contorno aprimorado da prevalência da leishmaniose tegumentar canina de acordo com métodos laboratoriais



O eixo x representa o logaritmo da prevalência de LTCan em cada teste laboratorial, já o eixo y o logaritmo do erro padrão. A linha vertical contínua mostra o efeito sumário da metáanálise e a linha tracejada diagonal indica o intervalo de confiança de 95% (a direita o mínimo a esquerda o máximo). E a estimativa de cada estudo é representada pelo círculo. (A) Imunofluorescência indireta (IIF); (B) Imunoensaio enzimático (Elisa); (C) pesquisa direta na lesão; (D) Reação em cadeia da polimerase (PCR) do sangue; (E) Reação em cadeia da polimerase (PCR) da lesão.

Fonte: Elaboração própria utilizando software StataTM version 14.0.

3.2 RISCO DE VIÉS

O risco de viés foi avaliado para todos os estudos. Três/59 estudos mostraram alto risco de viés (FERREIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; PASSOS et al., 1996); 26/59 moderado (BASANO et al., 2016; CARVALHAIS et al., 2019; CASTRO et al., 2005; CERINO et al., 2010; CONSTATINO et al., 2014; COSTA et al., 2016; FOLLADOR et al., 1999; GOMES et al., 1990; LONARDONI et al., 2006; LUDWIG et al., 2016; MADEIRA et al., 2005; MADEIRA et al., 2006; MARQUEZ et al., 2017; MASSUNARI et al., 2009; MEMBRIVE et al., 2017; PITTNER et al., 2009; SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2007; SANTOS et al., 1998; SANTOS et al., 2020; SAVANI et al., 1999; SERRA et al., 2003; SHERLOCK et al., 1996; SOCCOL et al., 2009; UCHÔA et al., 2001; VELASQUEZ et al., 2006) e 30 baixo risco de viés (Apêndice B).

O alto risco de viés foi identificado nas questões: (3) O processo de amostragem foi aleatório?". "(4) Todos os animais do grupo foram submetidos aos mesmos exames (considerando as condições clínicas, amostra disponível, perda)?" (7) "A reação cruzada com outros patógenos não-*Leishmania* foi considerada no teste aplicado?". "(8) No caso de dados de desfecho incompletos. Eles foram abordados adequadamente? e (10) "O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?". Alguns estudos não realizaram análise estatística e não relataram conflito de interesse.

3.3 DISCUSSÃO

Neste estudo, casos de cães naturalmente infectados por *Leishmania* spp. foram reportados em quase todos os estados, da região Norte ao Sul do Brasil, principalmente em cães domésticos e em áreas de agricultura, áreas urbanas (com presença de mata atlântica residual ou próximo a rios) e umidade tropical. Nosso estudo evidencia uma significativa prevalência (>10%) de cães com leishmaniose tegumentar canina com ampla distribuição no território nacional. Ainda, destaca-se a relevância da LTCan para manutenção do ciclo da doença em humanos.

Nesta revisão, a partir da década de 80 (BARRETTO et al., 1984; CUBA CUBA et al., 1985; FALQUETO et al., 1986; OLIVEIRA NETO et al., 1988) observa-se o início das publicações de LTCan no Brasil, sendo reportada inicialmente na Bahia (região nordeste)

(BARRETTO et al., 1984; CUBA CUBA et al., 1985) e sudeste (FALQUETO et al., 1986; OLIVEIRA NETO et al., 1988). Posteriormente, a doença passa a ser registrada em outras regiões, emergindo como endemia que permanece até os dias atuais.

No Brasil, a década de 80 foi um marco na história da saúde pública, uma vez ocorreu a reforma sanitária e foi criado o Sistema Único de Saúde (BRASIL, 1988). Mas antes disso, já em 1975 (Lei 6.229/75), foi criado o Sistema Nacional de Saúde (SNS) que determinava a organização de um complexo de serviços do setor público e privado, voltados para as ações de interesse da saúde.

Assim, os institutos de saúde se fortaleceram, e foram reconhecidos como Laboratórios Nacionais de Saúde Pública, em apoio ao Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (Portaria GM/MS nº 217, de 17 de setembro de 1981) (FUNASA, 2017). Portanto, é provável que a reforma tenha impulsionado o maior acesso das pessoas e seus animais aos serviços de diagnóstico e notificação de doenças infecciosas, como as leishmanioses. Até hoje, observamos o grande impacto dos institutos públicos nacionais para a vigilância epidemiológica da doença em humanos e animais, principalmente em grandes centros urbanos, como o sudeste.

A maioria dos estudos provém de centros de pesquisas de referência para diagnóstico da doença e instituições governamentais públicas, como a Fiocruz, Laboratórios Centrais (LACEN) e laboratórios de pesquisa de universidades públicas. No presente estudo observamos que no Sul e Sudeste do Brasil obtivemos o maior número de publicações recuperadas na revisão, na qual são regiões com maior índice de desenvolvimento econômico e que oferece maior acesso a serviços de saúde. Também estas regiões concentram as maiores expertises, estrutura de pesquisa em biologia molecular no país. Portanto, foi considerado uma limitação da revisão o baixo número de estudos primários que não foram publicados no Norte e Nordeste, uma vez que são áreas com alta endemicidade da doença, baixo nível socioeconômico e que precisam de maiores investimentos por se tratar de áreas com vulnerabilidade para LTCan. Isso reforça a importância dessas instituições para o controle e manejo das doenças negligenciadas. Ainda, o investimento nesta área é considerado essencial em áreas de risco para LT.

Contextualizando a LT humana, o primeiro caso de leishmaniose humana foi reportado no Brasil ocorreu em 1913, em Boa Esperança, Mato Grosso (ALENCAR; DIETZE, 1991) e, desde então, a doença passou a ser notificada em outros estados. Segundo o SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), a região com maior número de notificações de casos confirmados de LT em humanos é a Região Norte, que detém 43,37% dos casos confirmados em humanos, por ser a mais quente e úmida região do país (BRASIL, 2019). O Nordeste

registrou 29,89% dos casos, o Centro-Oeste 15,01% e as regiões Sudeste e Sul, respectivamente, com 9,70% e 1,97% (DATASUS, 2019). O maior número de casos de LTCanfoi reportado na região Norte e Nordeste, corroborando com a distribuição de casos de LT humana.

Nas regiões Norte e Nordeste, observa-se que a leishmaniose era encontrada originalmente nas matas participando do ciclo primário de transmissão da doença. Progressivamente houve adaptação desse inseto para o ambiente rural e sua adaptação a este ambiente foi somada à presença de animais silvestres e sinantrópicos (BRASIL, 2006). Em 2002, o Ministério da Saúde estimou que 66% dos casos no Brasil eram reportados na região Nordeste (BRASIL, 2006). Assim como outros estudos, observa-se alta prevalência da doença em áreas urbanas e peri-urbanas atualmente.

O ciclo do parasito *Leishmania* tem sofrido várias mudanças ao longo do tempo devido à ação humana, como já destacado a urbanização e o desmatamento. Há algumas décadas, o perfil epidemiológico selvagem, onde a transmissão da leishmaniose ocorria predominantemente em áreas de vegetação primária, já não é mais o mais prevalente. A expansão da agricultura, a urbanização e a exploração substancial das florestas para diversos fins humanos forçaram uma adaptação do vetor responsável pela transmissão da LT e criaram uma tendência epidemiológica. Esse fato foi reforçado por surtos epidêmicos relacionados a processos comportamentais humanos, como migração (ANDRADE et al, 2005; BRANDÃO-FILHO et al., 1998; BRASIL, 2017).

Ainda, nesta revisão, o maior número de publicações foi das regiões Sul e Sudeste, como esperado, uma vez que concentram os principais institutos de saúde e pesquisa do país, além de que nos últimos anos, principalmente no Sudeste, houve um grande crescimento urbano e concentração populacional, e isso favoreceu a sobreposição do desmatamento e urbanização da leishmaniose, pois aproximou os vetores e os hospedeiros (COSTA, 2005; NEGRÃO; FERREIRA, 2013; CUTOLO et al., 2021).

A alta endemicidade de LT em cães, incluindo cães domésticos, deve-se a vários fatores, mas principalmente devido à exposição do animal a áreas de risco. Outros fatores associados são relatados, como a demora no diagnóstico, muitas vezes influenciada pelo medo dos donos de sacrificar o animal, o que mantém o ciclo ativo. Outros fatores contribuíram para a LT como a utilização desses animais para caça e a livre circulação de cães entre a mata e as residências. Segundo Zanzarini et al. (2005), existe uma possível relação entre o aumento de casos domiciliares em humanos e infecções em cães e que os cães são ativos no ciclo da

Leishmania neste ambiente. Outro estudo destaca o seu possível papel na transmissão intra e peridoméstica como atratores de vetores (DANTAS-TORRES, 2007). Por isso, a busca ativa por cães infectados e a garantia do acesso a um diagnóstico laboratorial podem ser utilizadas como ferramentas para o manejo e controle da doença.

Nesta revisão, a prevalência de LTCan foi verificada por diferentes métodos laboratoriais em amostras de sangue e de lesão. Os mais comuns empregados foram a pesquisa direta no material da lesão, e PCR, IFI e ELISA no sangue, e o diagnóstico clínico pela presença de lesões cutâneas ou mucosas. No Brasil, o diagnóstico recomendado para LT em humanos e animais é baseado em critérios epidemiológicos, laboratoriais e clínicos.

Segundo a recomendação do Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2017), as técnicas são semelhantes às realizadas em doentes humanos. Além disso, baseiam-se no diagnóstico parasitológico ou sorológico. Os dados epidemiológicos (características de tempo, local, pessoa e frequência da doença e distribuição) são utilizados em conjunto com os dados clínicos do paciente para orientar o diagnóstico complementar (laboratorial) do hospedeiro. Em animais, o diagnóstico laboratorial de LT é baseado em métodos parasitológicos e sorológicos (IFI). Na presente revisão, o método parasitológico não foi o mais utilizado pois, nem todos os cães possuem lesão aparente que dificultou que os autores executassem esta metodologia. Por isso, a sorologia foi uma ferramenta de extrema importância para o diagnóstico de anticorpos anti-*Leishmania* no sangue canino.

Embora a IF seja considerada um dos métodos padrão ouro para o diagnóstico de anticorpos anti-*Leishmania* em humanos, ele pode não ser capaz de detectar os níveis de anticorpos em cães. A sensibilidade das técnicas sorológicas IFI, ELISA e *western blot* variam entre os laboratórios sendo o ideal entre 90-100% e o mesmo se dá para especificada (TREVISAN et al., 2015). Segundo Ribeiro et al. (2007), animais com LT apresentam uma redução da resposta humoral resultando em testes falso-negativos para a pesquisa de anticorpos. Observa-se que a resposta imune humoral dos cães é caracterizada por baixos níveis de anticorpos em resposta a infecções por *L. V. braziliensis* (OLIVEIRA et al., 2016). Ainda a IIF possui a desvantagem da dificuldade de obtenção e padronização dos antígenos utilizados na reação, assim como a aquisição anti-anticorpo canino e soros controles.

Nos testes sorológicos, ainda pode ocorrer reatividade cruzada com outras doenças (principalmente outras tripanossomíases), anticorpos heterólogos que competem na reação. No caso de reatividade cruzada com outros agentes infecciosos, ocorre o mimetismo molecular dos patógenos, que consiste na similaridade antigênica dos microrganismos favorecendo o

reconhecimento cruzado por anticorpos (BRASIL, 2006, 2017). Por esses motivos, nesta revisão, foi considerado como risco de viés, aqueles estudos que não investigaram a reatividade cruzada com outros patógenos (como *Trypanosoma cruzi*).

A fim de melhorar o diagnóstico das leishmanioses, desde de 1980 com a descoberta da PCR, esta técnica tem sido empregada para identificar as espécies do parasita circulante (JACKSON et al., 1986; MURBACK et al., 2011; SANTOS et al., 2020). Uma vez que existe uma grande variabilidade de espécies de *leishmania* que apresentam diferentes formas clínicas, forma de tratamento e eficácia de imunização, a identificação da espécie contribui para a compreensão da distribuição da doença no país e um manejo adequado. A sensibilidade desta técnica é alta, pois permite a detecção de quantidades mínimas de material genético do parasito, principalmente quando o alvo é um gene conservado entre as espécies. Principalmente com alvo o kDNA do minicírculo, uma vez que é a região mais conservada do parasito e presente em todas as espécies (CONTER et al. 2019). Além disso, o parasito possui muitas cópias dos minicírculos de cinetoplasto (REALE et al., 1999; LACHAUD et al., 2002).

Em contrapartida, esse alvo pode não permitir a identificação em nível de espécie, dependendo dos pares de primers desenhados, das condições e da variação da PCR (GRAÇA et al., 2012). Com isso, diversos estudos se concentraram em encontrar um alvo que promovesse a diferenciação das espécies de *Leishmania*. Portanto, a proteína de choque térmico hsp70 foi uma das proteínas mais promissoras, o que corrobora com estudos em humanos (GARCIA et al., 2004) e em reservatórios (CÁSSIA-PIRES et al., 2014).

A partir da identificação das espécies, *L. (V.) braziliensis* foi a espécie com distribuição mais significativa, responsável pela LTCan na grande maioria dos estudos. Essa espécie tem sido associada à LT humana, é encontrada em todas as áreas endêmicas do país (BRASIL, 2017; SILVA et al. 2017; CINCURÁ et al., 2017; ALMEIDA et al., 2021; ESPADA et al., 2018). Em nosso estudo, a infecção natural em animais tem um padrão de prevalência semelhante ao de humanos, uma vez que a maioria dos casos de LT também ocorre pelo parasito *L. braziliensis* seguido dos demais (BRITO et al., 1993; ESPADA et al., 2018; BRASIL, 2017). Destacamos que embora menos prevalentes, seja mantida a investigação de outras espécies de *leishmania*, como *L. guyanensis*, pois verificamos a expansão da infecção em áreas como Sudeste (FERREIRA et al., 2015; SANTOS et al., 2020).

Há evidências substanciais de que o cão desempenha um papel essencial na disseminação da LT. A adoção, principalmente em regiões endêmicas, de medidas de controle de doenças é crítica. O investimento em saneamento básico é uma das principais medidas para

o controle dos flebotomíneos, bem como o correto direcionamento do lixo e programas de combate ao foco vetorial para evitar a proximidade destes com os animais e o homem, bem como a presença de animais no entorno das áreas domésticas (BRASIL, 2017).

A obrigatoriedade do uso de telas de malha fina em residências, canis, hospitais e clínicas veterinárias, e a recomendação do uso regular de inseticidas, é outra boa medida a ser aplicada em áreas de intensa atividade da doença (BRASIL, 2017). O uso de coleiras impregnadas com 4% de Deltametrina efetivamente interrompe o contato dos cães com vetores em vários estudos (KILLICK-KENDRICK et al., 1997; GAVGANI et al., 2002; DAVID et al., 2001; HALBIG et al., 2000, LEITE, 2016). É considerada uma alternativa para o controle individual da infecção em cães, juntamente com a vacinação, evitando caminhadas em matas e plantações, principalmente durante o dia, quando os vetores estão mais ativos (no início da manhã e no final da tarde) (BRASIL, 2017).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão sistemática com metanálise, a prevalência de LT canina foi considerada alta em todas as regiões do Brasil, destacando-se as regiões Nordeste, Sudeste e Sul. A espécie *L. braziliensis* foi considerada a mais prevalente. A maioria dos animais infectados foram cães domésticos residentes em áreas urbanas, mostrando que o comportamento animal e de seus donos contribuiu para um maior acesso dos animais a mata resiliente, roedores e ambiente externo da casa tendo contato com os vetores. O potencial infectivo de *Leishmania* em cães comparado ao homem permanece por ser investigado. Ainda, os métodos laboratoriais mais empregados foram a IFI, ELISA e PCR em sangue e lesão. Sendo a PCR na lesão, o teste com maior taxa de detecção da infecção. Por isso sugerimos que as técnicas de diagnósticos sejam melhor padronizadas e que tenha maiores investimentos para os centros de referência se equiparem para a realização de testes moleculares. Os resultados desse estudo indicam que o Brasil pode ser considerado uma imensa área de risco para a LT canina, sendo de extrema importância a intensificação das medidas profiláticas, como o encoleiramento de cães e a imunização, assim como, a formulação de políticas públicas de saúde e ações estratégicas que assegurem o acesso e qualidade do diagnóstico laboratorial em todo território nacional.

4.1 FINANCIAMENTO

Este estudo não foi financiado.

4.2 CONTRIBUIÇÕES

KVRF, JPF, JJVT, MVCL e IGD realizaram pesquisa bibliográfica. KVRF, JPF e BBA projetaram o formulário de extração de dados e realizaram a extração de dados. JPF, TLL e ETBM analisaram o risco de viés. KVRF e IGD realizaram a análise dos dados. BGMB; IFK, ZSB, EMD revisaram criticamente e analisaram os dados extraídos. KVRF e BBA escreveram o artigo. IGD e EMD revisaram criticamente os rascunhos subsequentes. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito para submissão. Todos os autores tiveram acesso total a todos os dados do estudo e assumiram a responsabilidade pela integridade dos dados e pela precisão da análise dos dados.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, J. E.; DIETZE, R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 706-17.
- ALMEIDA, J. V. et al. Diagnosis and identification of *Leishmania* species in patients with cutaneous leishmaniasis in the state of Roraima, Brazil's Amazon Region. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2021.
- ALVES, E. B. et al. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. **Preventive veterinary medicine**, v. 182, p. 105104, 2020.
- ANDRADE, M. S. et al. Sandfly fauna in a military training area endemic for American tegumentary leishmaniasis in the Atlantic Rain Forest region of Pernambuco, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 1761-1767, 2005.
- ANTINORI, S. et al. Is real-time polymerase chain reaction (PCR) more useful than a conventional PCR for the clinical management of leishmaniasis?. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 81, n. 1, p. 46-51, 2009.
- ARAÚJO, L. F. et al. Análise da cobertura de abastecimento e da qualidade da água distribuída em diferentes regiões do Brasil no ano de 2019. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 2935-2947, 2022.
- ASSIS, T. M. et al. Cost-effectiveness of a canine visceral leishmaniasis control program in Brazil based on insecticide-impregnated collars. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020.
- BARBOSA, G. M. S. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em cães, no Município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, p. 641-646, 1999.
- BARRETTO, A. C. et al. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia, Brasil. I. Leishmaniose humana. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)**; 90 (5), mayo 1981, 1981.
- BARRETTO, A. C. et al. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia: II leishmaniose canina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 17, p. 59-65, 1984.
- BASANO, S. A. et al. Toxoplasma gondii, Neospora caninum and Leishmania amazonensis antibodies in domestic dogs in the western Brazilian Amazon region. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.(Online)**, p. 1-9, 2016.
- BENITEZ, A. N. et al. Spatial and simultaneous seroepidemiology of anti-*Leishmania* spp. antibodies in dog owners and their dogs from randomly selected households in a major city of southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 154, p. 47-53, 2018.

BORJA-CABRERA GP, Santos FN, Bauer FS, Parra LE, Menz I, Morgado AA, et al. **Immunogenicity assay of the Leishmune® vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil.** *Vaccine* 2008 Sep; 26: 4991–4997

BRACHELENTE, C. et al. Cutaneous leishmaniasis in naturally infected dogs is associated with a T helper-2-biased immune response. **Veterinary Pathology**, v. 42, n. 2, p. 166-175, 2005.

BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in "Zona da Mata" region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 445-449, 1994.

BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. Leishmaniose tegumentar americana em centro de treinamento militar localizado na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.31, p. 575-578, 1998.

BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.

BRASIL. Constituição (1988). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal: Centro Gráfico, 1988.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes Metodológicas Brasília**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

_____. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, 2006. Disponível em: < https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscer al.pdf >. Acesso em: 7 mar. 2022.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília, 2017. Disponível em: < https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf >. Acesso em: 7 mar. 2022.

_____. Ministério da Saúde. **Nota Informativa nº 24/2019-CGDT/DEVIT/SVS/MS**. Brasília, 2019. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/leishmaniose/5-nota-informativa-n-24-2019-cgdt-devit-svs-ms/view> >. Acesso em: 7 mar. 2022.

_____. Ministério da Saúde. **Nota Técnica nº 5/2021-CGZV/DEIDT/SVS/MS**. Brasília, 2021. Disponível em: < https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/arquivos/sei_ms-nota-tecnica-n-5_leishpdf.pdf >. Acesso em: 7 mar. 2022.

BRILHANTE, A. F. et al. Leishmania (Viannia) braziliensis type 2 as probable etiological agent of canine cutaneous leishmaniasis in Brazilian Amazon. **PLoS One**, v. 14, n. 4, p. e0216291, 2019.

BRITO, M. E. F., et al. Domesticity of Lutzomyia whitmani (Diptera: Psychodidae) populations: field experiments indicate behavioural differences. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 90, p. 41-48, 1993.

BRYDEN, A. M.; IBBOTSON, S. H.; FERGUSON, J. Spontaneous resolution of chronic actinic dermatitis in a young patient with atopic dermatitis. **Clinical and experimental dermatology**, v. 27, n. 2, p. 163-164, 2002.

CABRAL, M. et al. The immunology of canine leishmaniosis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. **Veterinary parasitology**, v. 76, n. 3, p. 173-180, 1998.

CAMARADES. **Systematic review of animal studies**. 2021. Disponível em: <<https://www.ed.ac.uk/clinical-brain-sciences/research/camarades/tools-resources/sr-animal-studies>>. Acesso em: 4 jan. 2022.

CARDOSO, R. M. et al. Expanding the knowledge about Leishmania species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2015.

CARVALHAIS, N. A. S. et al. Detection of mixed Leishmania infections in dogs from an endemic area in southeastern Brazil. **Acta tropica**, v. 193, p. 12-17, 2019.

CARVALHO, C. A. **Detecção de antígenos circulantes como abordagem diagnóstica em leishmaniose visceral**. 2017. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

CARVALHO, F. S. et al. Leishmania (Viannia) braziliensis in dogs in Brazil: epidemiology, co-infection, and clinical aspects. **Genet Mol Res**, v. 14, n. 4, p. 12062-12073, 2015.

CÁSSIA-PIRES, R. et al. Distinct Leishmania species infecting wild caviomorph rodents (Rodentia: Hystricognathi) from Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 12, p. e3389, 2014.

CASTRO, E. A. et al. Eco-epidemiological survey of Leishmania (Viannia) braziliensis american cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Ribeira Valley River, Parana State, Brazil. **Acta tropica**, v. 93, n. 2, p. 141-149, 2005.

CASTRO, E. A. et al. Leishmania (Viannia) braziliensis: epidemiology of canine cutaneous leishmaniasis in the State of Paraná (Brazil). **Experimental parasitology**, v. 117, n. 1, p. 13-21, 2007.

CASTRO, M. M. et al. Pentoxifylline in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis: A Randomized Clinical Trial in Colombia. **Pathogens**, v. 11, n. 3, p. 378, 2022.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Biology**. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>. Acesso em: 7 mar. 2022.

CERINO, D. A. et al. American cutaneous leishmaniasis in dogs from an endemic urban area in Cianorte municipality, Paraná State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, p. 241-252, 2010.

CINCURÁ, C. et al. Mucosal leishmaniasis: a retrospective study of 327 cases from an endemic area of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 97, n. 3, p. 761, 2017.

COCHRANE. **Our evidence**. 2016. Disponível em: < <https://www.cochrane.org/evidence>>. Acesso em: 4 fev. 2022.

COLLINS, H. et al. The effect of resistance training interventions on fundamental movement skills in youth: a meta-analysis. **Sports medicine-open**, v. 5, n. 1, p. 1-16, 2019.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA (CRMV/PR). **Manual técnico de leishmanioses caninas**. 2015. Disponível em: < <https://www.crmv-pr.org.br/uploads/publicacao/arquivos/Manual-tecnico-de-leishmanioses-caninas.pdf>>. Acesso em: 6 abr. 2022.

CONSTANTINO, C. et al. Serosurvey for *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi* and *Neospora caninum* in neighborhood dogs in Curitiba-Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 504-510, 2016.

CONTER, C. C. et al. PCR primers designed for new world *Leishmania*: A systematic review. **Experimental parasitology**, v. 207, p. 107773, 2019.

COOK, D. J.; MULROW, C. D.; HAYNES, R. B. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. **Annals of internal medicine**, v. 126, n. 5, p. 376-380, 1997.

COSTA, J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, n.1, p.3-17, 2005.

COSTA, L. et al. Leishmaniasis in dogs from recycling centers and from a neighborhood with adjacent forest in an urban area of Londrina, Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1407-1414, 2016.

COSTA, R. S. et al. Early cutaneous leishmaniasis patients infected with *Leishmania braziliensis* express increased inflammatory responses after antimony therapy. **The Journal of infectious diseases**, v. 217, n. 5, p. 840-850, 2018.

CUBA CUBA, C. et al. A focus of mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia, Brazil: characterization and identification of *Leishmania* stocks isolated from man and dogs. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 4, p. 500-507, 1985.

CUNHA, J. C. L.; LIMA, J. W. O.; POMPEU, M. M. L. Transmissão domiciliar de leishmaniose tegumentar e associação entre leishmaniose humana e canina, durante uma epidemia na Serra de Baturité, no estado de Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 425-435, 2006.

CUTOLO, A. A. et al. Persistent cutaneous canine leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in an area with predominance of *Nyssomyia neivai* in the state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, 2021.

DA SILVA VO, Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, Paraguai De Souza E, Luz KG, Palatnik M, et al. **A phase III trial of efficacy of the FML vaccine against canine kala-azr in an endemic area of Brazil** (São Gonçalo do Amarante, RN). *Vaccine*. 2000 Dec, 19: 1082-1092.

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

DANTAS-TORRES, F. et al. Canine leishmaniasis control in the context of one health. **Emerging infectious diseases**, v. 25, n. 12, p. 1-4, 2019.

DANTAS-TORRES, F. et al. Vaccination against canine leishmaniasis in Brazil. **International journal for parasitology**, v. 50, n. 3, p. 171-176, 2020.

DATASUS. **Informações de Saúde, LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - CASOS CONFIRMADOS NOTIFICADOS NO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO - BRASIL: Casos confirmados por Região de notificação segundo Ano Diagnóstico (2007/2019)**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>> Acesso em: 20 outubro de 2021.

DAVID, J. R. et al. Deltamethrin – impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n.6, p.839-847, 2001.

DEKKERS, O. M. Why not to (over) emphasize statistical significance. **European Journal of Endocrinology**, v. 181, n. 3, p. E1-E2, 2019.

DE LUCA-CANTO, GRAZIELA et al. **Revisões sistemáticas da literatura: guia prático**. 1. ed. Curitiba: Brazil Publishing, 2020.

DU SERT, N. P. et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. **PLoS biology**, v. 18, n. 7, p. e3000411, 2020.

ESPADA, C. R. et al. Identification of *Leishmania (Viannia)* species and clinical isolates of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* from Brazil using PCR-RFLP of the heat-shock protein 70 gene reveals some unexpected observations. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 91, n. 4, p. 312-318, 2018.

- FALQUETO, A. et al. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 155-163, 1986.
- FERREIRA, L. T.; GOMES, A. H. S.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. Genotype characterization of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* isolated from human and canine biopsies with American cutaneous leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 257-262, 2015.
- FERRER, L. et al. Chronic colitis due to *Leishmania* infection in two dogs. **Veterinary pathology**, v. 28, n. 4, p. 342-343, 1991.
- FIGUEIREDO, F. B. et al. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 141-145, 2009.
- FOLLADOR, I. et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 497-503, 1999.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Cronologia histórica da saúde pública**. 2017. Disponível em: < <http://www.funasa.gov.br/cronologia-historica-da-saude-publica>>. Acesso em: 7 mar. 2022.
- GARCIA, A. M. et al. Estudo da evolução natural da infecção causada por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* em cães no município da Raposa-Maranhão, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 31., 2004, São Luís. **Anais...** São Luís: SBMV/SOMEVEMA, 2004. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. R. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 7, p. 338-349, 2004.
- GAVGANI, A. S. M.; HODJATI, M. H.; MOHITE, H.; DAVIES, C. R. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched cluster randomised trial. **The Lancet**, v. 360, n. 9330, p. 374-379, 2002.
- GERMANÓ, M. J. et al. Identification of immunodominant antigens from a first-generation vaccine against cutaneous Leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1-11, 2022.
- GLASZIOU, Paul et al. **Systematic reviews in health care: a practical guide**. Cambridge University Press, 2001.
- GOMES, A. C. et al. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana: 8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, em ambiente florestal e peridomiciliar, Região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 32, p. 105-115, 1990.

- GOMES, C. M. C. et al. Immunopathological characterization of human cutaneous leishmaniasis lesions caused by *Leishmania* (*Viannia*) spp. in Amazonian Brazil. **Parasitology Research**, v. 116, n. 5, p. 1423-1431, 2017.
- GONÇALVES, G. et al. Increased *Leishmania infantum* resistance to miltefosine and amphotericin B after treatment of a dog with miltefosine and allopurinol. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2021.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 71-80, 2006.
- GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics**, v. 26, n. 2, p. 293-307, 2012.
- GRAÇA, G. C. et al. Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis and identification of the parasite species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 664-674, 2012.
- HALBIG, P. et al. Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 14, n. 2, p. 223-226, 2000.
- HEUSSER-JÚNIOR, A. et al. Leishmaniose tegumentar canina no município de Balneário Camboriú, Estado de Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 713-718, 2010.
- HIGGINS, K. M. et al. Treatment of early-stage glottic cancer: meta-analysis comparison of laser excision versus radiotherapy. **Journal of Otolaryngology--Head & Neck Surgery**, v. 38, n. 6, 2009.
- HIGGINS, J. P. T. et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. **Bmj**, v. 343, 2011.
- HIGGINS, J. P. T. et al. (Ed.). **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**. 2022. Disponível em: < <https://training.cochrane.org/handbook>>. Acesso em: 8 jan. 2022.
- HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC medical research methodology**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2014.
- JERONIMO, S. M. et al. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 4, p. 386-388, 1994.
- JESUS, J. R. et al. Avaliação sorológica de anticorpos para *Leishmania* spp. na população canina em região de foco de leishmaniose tegumentar americana na Lomba do Pinheiro, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Parasitología latinoamericana**, v. 61, n. 3-4, p. 121-125, 2006.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of phlebotomine sand flies. **Clinics in dermatology**, v. 17, n. 3, p. 279-289, 1999.

KILLICK-KENDRICK, R. et al. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. **Medical and veterinary entomology**, v. 11, n. 2, p. 105-111, 1997.

KOCHER, A. et al. High-throughput sequencing of kDNA amplicons for the analysis of *Leishmania* minicircles and identification of Neotropical species. **Parasitology**, v. 145, n. 5, p. 585-594, 2018.

KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 2, p. 527-538, 2014.

LACHAUD, Laurence et al. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 1, p. 210-215, 2002.

LAGO, J. et al. Clinical and histopathologic features of canine tegumentary leishmaniasis and the molecular characterization of *Leishmania braziliensis* in dogs. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 7, p. e0007532, 2019.

LEÇA JÚNIOR, N. F. L. et al. Epidemiology of canine leishmaniasis in southern Bahia, Brazil. **Acta tropica**, v. 148, p. 115-119, 2015.

LEITE, Bruna Martins Macedo. **Avaliação da eficácia de coleiras impregnadas com deltametrina no controle e prevenção da leishmaniose visceral canina em área endêmica**. Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia. 2016

LIMA, J. T. R. et al. Serodiagnosis of visceral and cutaneous leishmaniasis in human and canine populations living in Indigenous Reserves in the Brazilian Amazon Region. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, p. 61-66, 2017.

LIRA RA. 2005. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina**: Avaliação do Desempenho dos Kits EIE-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos e IFI-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, PE. 43p.

LONARDONI, M. V. C. et al. Leishmaniose tegumentar americana humana e canina no Município de Mariluz, Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, p. 2713-2716, 2006.

LUDWIG, L. A. et al. Presence of antibodies against *Leishmania* spp. in domestic dogs from Toledo, Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, p. 3087-3093, 2016.

MADEIRA, M. F. et al. Is *Leishmania (Viannia) braziliensis* preferentially restricted to the cutaneous lesions of naturally infected dogs?. **Parasitology Research**, v. 97, n. 1, p. 73-76, 2005.

MADEIRA, M. F. et al. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 138, n. 3-4, p. 366-370, 2006.

MAIA, CARLA; RAMADA, JOÃO; CRISTÓVÃO, J. M.; GONÇALVES, L.; CAMPINO, LENEIA. **Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues**. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, v. 179, n. 1, p. 142-4, 2009.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S. et al. Análise dos registros de leishmaniose visceral pelo método de captura-recaptura. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 931-937, 2007.

MARQUES JUNIOR, N. **Meta-Análise para os estudos do esporte e da atividade física**. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*. 8. 2014.

MARQUEZ, E. S. et al. Cutaneous leishmaniosis in naturally infected dogs in Paraná, Brazil, and the epidemiological implications of *Leishmania (Viannia) braziliensis* detection in internal organs and intact skin. **Veterinary parasitology**, v. 243, p. 219-225, 2017.

MASSUNARI, G. K. et al. A serological and molecular investigation of American cutaneous leishmaniasis in dogs, three years after an outbreak in the Northwest of Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, p. 97-104, 2009.

MATHEW, J. L.; KAUR, N.; DSOUZA, J. M. Up-to-date Systematic Review and Meta-analysis of Therapeutic Hypothermia for Neonatal Encephalopathy: Is the Crown Losing Its Sheen?. **Indian Pediatrics**, v. 58, n. 12, p. 1189-1191, 2021.

MEDRONHO, R. A. et al. *Aedes aegypti* immature forms distribution according to type of breeding site. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 80, n. 3, p. 401-404, 2009.

MEMBRIVE, N. A. et al. Environmental and animal characteristics as factors associated with American cutaneous leishmaniasis in rural locations with presence of dogs, Brazil. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e47050, 2012.

MEMBRIVE, N. A. et al. Considerations of potential vectors and animal reservoirs in an emerging cutaneous leishmaniasis area in São Domingos ranch, Paraná State in Southeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, 2017.

MENEZES, J. A. et al. An integrated approach using spatial analysis to study the risk factors for leishmaniasis in area of recent transmission. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

MIOT HA, Paixão MP, Wen CL. **Tele Dermatologia - passado, presente e futuro**. *An Bras Dermatol*. 2005;80:523-32.

MURAD, M. H.; ASI, N.; ALSAWAS, M.; ALAHDAB, F. New evidence pyramid. **BMJ Evidence-Based Medicine**, v. 21, n. 4, p. 125-127, 2016.

MURBACK, N. D. N. et al. Leishmaniose tegumentar americana: estudo clínico, epidemiológico e laboratorial realizado no Hospital Universitário de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, p. 55-63, 2011.

NEGRÃO, G. N.; FERREIRA, M. E. M. C. Circuitos espaciais da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Paraná. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 9, n. 17, 2013.

NOGUEIRA FS, Moreira MA, Borja-Cabrera GP, Santos FN, Menz I, Parra LE, Xu Z, Chu HJ, Palatnik-de-Sousa CB, Luvizotto MC. **Leishmune vaccine blocks the transmission of canine visceral leishmaniasis: absence of Leishmania parasites in blood, skin and lymph nodes of vaccinated exposed dogs**. *Vaccine*. 2005 Sep 23;23(40):4805-10.

OLÍAS-MOLERO, A. I.; FONTÁN-MATILLA, E.; CUQUERELLA, M.; ALUNDA, J. M. Scientometric analysis of chemotherapy of canine leishmaniasis (2000–2020). **Parasites & vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2021.

OLIVEIRA, G. M. et al. PCR associated with molecular hybridization detects *Leishmania (Viannia) braziliensis* in healthy skin in canine tegumentary leishmaniasis. **The Journal of Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 91-93, 2015.

OLIVEIRA, T. N. A. et al. Diagnosis and epidemiology of canine leishmaniasis in southeastern Bahia, Brazil. **Genet Mol Res**, v. 15, n. 3, p. 210, 2016.

OLIVEIRA-NETO, M. P. et al. An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, p. 427-435, 1988.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **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. Disponível em: < <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>>. Acesso em: 6 mar. 2022.

_____. **Leishmaniasis**. 2020. Disponível em: < https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1>. Acesso em: 6 mar. 2022.

_____. **Control of the leishmaniases**. World Health Organ Tech Rep Ser, n. 949, p. xiixiii, 1-186, 2021.

_____. **Leishmaniasis**. 2022. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> >. Acesso em: 6 mar. 2022.

PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Systematic reviews**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2021.

- PALATNIK-DE-SOUSA CB, Silva-Antunes I, Morgado Ade A, Menz I, Palatnik M, Lavor C. **Decrease of the incidence of human and canine visceral leishmaniasis after dog vaccination with Leishmune in Brazilian endemic areas.** *Vaccine*. 2009 Jun 2;27(27):3505-12. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.03.045. Epub 2009 Apr 8.
- PARRA LE, Borja-Cabrera GP, Santos FN, Souza LO, Palatnik-de-Sousa CB, Menz I. **Safety trial using the Leishmune® vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil.** *Vaccine*. 2007 Mar, 25(12):2180-6.
- PASSOS, V. M. A. et al. Inquérito canino em foco recente de leishmaniose tegumentar no município de Sabará, região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, p. 323-329, 1996.
- PAZ, G. F. et al. Implications of the use of serological and molecular methods to detect infection by *Leishmania* spp. in urban pet dogs. **Acta tropica**, v. 182, p. 198-201, 2018.
- PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of leishmaniasis. **Clinical infectious diseases**, p. 1-11, 1996.
- PHILLIPS, R. S. et al. Systematic review and meta-analysis of outcomes after cardiopulmonary arrest in childhood. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0130327, 2015.
- PICCICA, M. et al. Efficacy and safety of pentamidine isethionate for tegumentary and visceral human leishmaniasis: a systematic review. **Journal of Travel Medicine**, v. 28, n. 6, 2021.
- PITTNER, E. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar em cães de área endêmica no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 561-565, 2009.
- QUARESMA, P. F. et al. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. 10, p. 579-585, 2011.
- RAIMUNDO, V. D. et al. Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: a systematic review of preclinical evidence. **Pharmacological Research**, p. 106117, 2022.
- RAMOS, J. V. A. et al. Molecular diagnosis of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) in dogs from an endemic area in Pernambuco State, Brazil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 13, n. 2, p. 218-226, 2019.
- REALE, S. et al. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 9, p. 2931-2935, 1999.
- REGUERA, R. M. et al. Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 227, p. 98-114, 2016.

RIBEIRO, F. C. et al. Use of ELISA employing *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* antigens for the detection of IgG and IgG1 and IgG2 subclasses in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-4, p. 200-206, 2007.

RUIZ-POSTIGO, J. A. et al. Global leishmaniasis surveillance: 2019-2020, a baseline for the 2030 roadmap/Surveillance mondiale de la leishmaniose: 2019-2020, une periode de reference pour la feuille de route a l'horizon 2030. **Weekly Epidemiological Record**, v. 96, n. 35, p. 401-420, 2021.

SANGIORGI, B. et al. Natural breeding places for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a semiarid region of Bahia state, Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2012, 2012.

SANTOS, E. G. O. B. et al. Epidemiological survey on canine population with the use of immunoleish skin test in endemic areas of human American cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 40, p. 41-48, 1998.

SANTOS, F. J. A. et al. First report of canine infection by *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 22, p. 8488, 2020.

SANTOS, G. P. L. et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 161-166, 2005.

SANTOS, I. B. et al. Sporotrichosis—The main differential diagnosis with tegumentary leishmaniasis in dogs from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 143, n. 1, p. 1-6, 2007.

SARAIVA, L. M. et al. Replacement of lysine 45 by uncharged residues modulates the redox-Bohr effect in tetraheme cytochrome c 3 of *Desulfovibrio vulgaris* (Hildenborough). **Biochemistry**, v. 37, n. 35, p. 12160-12165, 1998.

SAVANI, E. S. M. M. et al. Inquérito sorológico sobre leishmaniose tegumentar americana em cães errantes no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 629-631, 1999.

SCHEINFELD N. **Evaluating patient acceptance of a teledermatology link of an urban urgent-care dermatology clinic run by residents with board of certified dermatologists**. SKINmed [serial on the Internet]. 2003 [cited 2004 Mar 03]; 3 [about 3 p.]. Available from: http://www.medscape.com/viewarticle/455635_print

SCOTT, P.; NOVAIS, F. O. Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 9, p. 581-592, 2016.

SERRA, C. et al. Leishmaniose tegumentar canina em Morada das Águias (Serra da Tiririca), Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 1877-1880, 2003.

SHERLOCK, I. A.; MAIA, H.; DIAS-LIMA, A. G. Resultados preliminares de um projeto sobre a ecologia dos flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar no estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, p. 207-214, 1996.

SILVA, F. B.; ANTUNES, J. L. F.; FRAZÃO, P. Deprived areas and community water fluoridation in Brazil: a multilevel approach for refocusing public policy. **Epidemiology and Health**, v. 43, 2021.

SILVA, J. et al. Dynamics of American tegumentary leishmaniasis in a highly endemic region for *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in northeast Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 11, p. e0006015, 2017.

SILVA FILHO, M. F. et al. Infection by *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. in humans and dogs from rural settlements in Northern Paraná State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 3251-3264, 2012.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. P. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 239-251, 2004.

SOCOL, V. T. et al. A new focus of cutaneous leishmaniasis in the central area of Paraná State, southern Brazil. **Acta Tropica**, v. 111, n. 3, p. 308-315, 2009.

SOLANO-GALLEGO, L; KOUTINAS, A; MIRÓ, G; et al. **Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis**. *Veterinary parasitology*, v. 165, n. 1-2, p. 1–18, 2009.

STARLING, M. C. V .M; AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **Journal of hazardous materials**, v. 372, p. 17-36, 2019.

UCHÔA, C. M. A. et al. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 563-568, 2001.

VASCONCELOS, T. C. B. et al. Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: a systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 74, p. 103293, 2019.

VELASQUEZ, L. G. et al. PCR in the investigation of canine American tegumentary leishmaniasis in northwestern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, p. 571-578, 2006.

VELEZ, R.; GALLEGOS, M. Commercially approved vaccines for canine leishmaniasis: a review of available data on their safety and efficacy. **Tropical Medicine & International Health**, v. 25, n. 5, p. 540-557, 2020.

VESTERINEN, H. M. et al. Meta-analysis of data from animal studies: a practical guide. **Journal of neuroscience methods**, v. 221, p. 92-102, 2014.

WADDINGTON, A.; REID, R. More harm than good: the lack of evidence for administering misoprostol prior to IUD insertion. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada**, v. 34, n. 12, p. 1177-1179, 2012.

WEN CL. **Modelo de ambulatório virtual (cyber ambulatório) e tutor eletrônico (cyber tutor) para aplicação na interconsulta médica, e educação à distância mediada por tecnologia** [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.

WILLI, B. et al. Clinical and molecular investigation of a canine distemper outbreak and vector-borne infections in a group of rescue dogs imported from Hungary to Switzerland. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2015.

WILLI, L. M. V. et al. Serological evidence of canine exposure to arthropod-borne pathogens in different landscapes in Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 7, p. 40-44, 2017.

ZANZARINI, P. D. et al. Leishmaniose tegumentar americana canina em municípios do norte do Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 6, p. 1957-1961, 2005.

APÊNDICE A – DESCRIÇÃO

O material suplementar desta dissertação pode ser acessado em:
<<https://drive.google.com/drive/folders/1K3-UMvsE3vKjLgDieXrkgSqKeD5sHnxY?usp=sharing>>.

APÊNDICE B – TABELA DE ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS

A tabela de análise de viés dos artigos selecionados para a Revisão Sistemática pode ser acessada em:

<https://docs.google.com/spreadsheets/d/1MX9U8v8KZOBgX_n4i2kS_V17Dv4Og6-t/edit?usp=sharing&ouid=113227164348143573703&rtpof=true&sd=true>.