



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS REITOR JOÃO DAVID FERREIRA LIMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Gilmara David Lemos

**Eficácia de novos agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos de leishmaniose
cutânea: uma overview de revisões sistemáticas**

Florianópolis

2025

Gilmara David Lemos

Eficácia de novos agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos de leishmaniose cutânea:
uma overview de revisões sistemáticas

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
da Universidade Federal de Santa Catarina para a
obtenção do título de mestre em Análises Clínicas.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Galhardo Demarchi

Florianópolis

2025

Ficha catalográfica gerada pelo autor por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.

Lemos, Gilmara David

Eficácia de novos agentes anti-Leishmania em modelos murinos de leishmaniose cutânea: uma overview de revisões sistemáticas / Gilmara David Lemos ; orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, 2025.

96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. leishmaniose. 3. camundongo. 4. agente anti-protozoário. I. Demarchi, Izabel Galhardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. III. Título.

Gilmara David Lemos

Eficácia de novos agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos de leishmaniose cutânea:
uma overview de revisões sistemáticas

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

Profª Drª Tatiana Herrerias
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª Drª Mariana de Souza Terron
Universidade Estadual de Maringá

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



Documento assinado digitalmente
Thais Cristine Marques Sincero
Data: 06/08/2025 13:29:50-0300
CPF: ***.292.249-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Documento assinado digitalmente
IZABEL GALHARDO DEMARCHI
Data: 05/08/2025 11:29:37-0300
CPF: ***.479.779-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profª Drª Izabel Galhardo Demarchi
Orientadora

Florianópolis, 2025

Este trabalho é dedicado aos meus filhos, Lucas e Alice, e aos meus pais, Selma e Gilmar.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Selma e Gilmar, que sempre batalharam para que eu tivesse acesso a uma educação de qualidade e em especial a minha mãe que sempre foi meu alicerce e minha fonte de inspiração, e que dedicou grande parte da sua vida para proporcionar as oportunidades para que eu fosse atrás dos meus sonhos.

Aos meus filhos, Lucas e Alice, duas crianças amadas e compreensivas que, por muitas vezes, tiveram que entender o motivo da mamãe estar fazendo esse projeto, e que mais tarde, quando eles lerem esta dissertação, saberão que na verdade o propósito sempre foi eles e para eles. Obrigada meus filhos, pela parceria e paciência neste caminho.

A minha brilhante e competente orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, por toda dedicação, paciência, ensinamentos transmitidos e orientação constante na minha formação como pesquisadora.

Aos professores constituintes da banca de qualificação: Thaís Cristine Marques Sincero e Mariana de Souza Terron pela leitura atenta e críticas construtivas para melhoria e qualificação da minha dissertação.

Aos colegas do LAPI (Laboratório de Pesquisa em Imunologia) da UFSC, Paula Giarola Fragoso de Oliveira e Tainá Larissa Lubschinski, pelo incentivo constante e principalmente pela dedicação e empenho nos momentos cruciais da extração de dados.

A equipe do LPB (Laboratório de Patologia Bucal), meu local de trabalho na UFSC, por terem me apoiado durante a minha jornada no mestrado e principalmente a minha amiga e colega no LPB, Manoela Lira Reis, pelo apoio técnico, intelectual, psicológico e muitos momentos de descontração, que tornam os nossos dias mais leves, agradáveis e felizes. E aos alunos da pós-graduação do LPB que dedicam seu tempo a me ajudarem com minha pesquisa e se tornaram grandes amigos.

Ao meu irmão Júnior, meu sobrinho Biel e minha cunhada Luiza pelo apoio em todos os momentos. As minhas amigas Anna, Emily, Flávia, Livia e Tatiane, que estão a 20 anos presente na minha vida e nas minhas conquistas, e a minha “Patotinha” do beach tennis, que estão torcendo e sempre me incentivando nas minhas decisões.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“O professor é, naturalmente, um artista, mas ser um artista não significa que ele ou ela consiga formar o perfil, possa moldar os alunos. O que um educador faz no ensino é tornar possível que os estudantes se tornem eles mesmos”. (Paulo Freire)

RESUMO

A leishmaniose é um complexo de doenças infecciosas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que são transmitidos aos humanos e animais através da inoculação do parasito na pele durante a picada por flebotomíneos infectados. A leishmaniose cutânea (LC) é a mais prevalente no mundo, e caracterizada por uma lesão única no local da picada ou múltiplas lesões. O tratamento para seres humanos é realizado com antimoniais pentavalentes, anfotericina B e compostos azólicos. Porém, estes medicamentos podem apresentar toxicidade e falha terapêutica. Sendo assim, muitos estudos pré-clínicos têm sido desenvolvidos para a descoberta de novos fármacos para o tratamento das leishmanioses. Considerando as inúmeras publicações sobre o tema em modelos murinos, há uma lacuna translacional da experimentação animal e o uso de substâncias em seres humanos. Portanto, existe a necessidade de se gerar uma evidência robusta sobre a eficácia de novos fármacos anti-*Leishmania* em camundongos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar as evidências sobre a eficácia de agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos. Para isso foi elaborada uma overview de revisões sistemáticas com o objetivo de sintetizar e avaliar o nível da evidência sobre a eficácia de fármacos leishmanicidas em modelos murinos. O protocolo de pesquisa foi registrado no Open Science Framework. A pergunta científica, a estratégia de busca e os critérios de elegibilidade foram elaborados de acordo com o acrônimo PICOS. A busca foi realizada em cinco bases de dados principais (Pubmed, EMBASE, Web of Science, Scopus e Lilacs, em 2024), sem restrição de tempo de publicação e idioma. A elegibilidade, extração de dados e análise do risco de viés foram conduzidas por dois pesquisadores independentes. Qualquer discrepância foi resolvida por uma expertise no tópico da pesquisa. De 400 estudos recuperados nas bases de dados, 12 foram incluídos neste trabalho. Os camundongos BALB/c foram os mais utilizados para testes de substâncias em modelos de LC. As espécies de *Leishmania* mais utilizadas no modelo animal foram *L. major* e *L. amazonensis*, inoculados na pata ou base da cauda. A maioria dos estudos primários iniciaram o tratamento depois do aparecimento da lesão cutânea (~30 dias após inoculação do parasito). As intervenções foram variadas e incluíram fármacos de referência, plantas, óleos, extratos, compostos isolados ou combinados. Os parâmetros de tamanho da lesão, carga parasitária e cicatrização completa da lesão foram os desfechos investigados. A utilização de nanopartículas foi a estratégia mais promissora para redução do tamanho da lesão e carga parasitária. Plantas e derivados, substâncias nanoparticuladas e combinação de fármacos mostraram-se promissores para o tratamento de LC nos estudos pré-clínicos, contudo, foi observada uma grande heterogeneidade metodológica entre os estudos, e levantadas lacunas importantes da experimentação animal. Apesar da maioria das RS terem apresentado baixo risco de viés, as limitações identificadas nos aspectos metodológicos sugerem a necessidade de maior rigor na condução e no relato desse tipo de estudo para garantir maior confiabilidade e aplicabilidade dos achados na prática clínica e científica. Sugere-se fortemente que as RS sigam as recomendações PRISMA, avaliem o risco de viés dos estudos experimentais com ferramentas como o SYRCLE, e considerem esse resultado para análise da evidência.

Palavras-chave: leishmaniose; camundongo; agente anti-protozoário.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a complex of infectious diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania*, which are transmitted to humans and animals through the inoculation of the parasite into the skin during bites by infected sandflies. Cutaneous leishmaniasis (CL) is the most prevalent form of leishmaniasis worldwide and is characterized by a single lesion at the site of the bite or multiple lesions. Treatment for humans involves pentavalent antimonials, amphotericin B, and azole compounds. However, these drugs can present toxicity and therapeutic failure. Therefore, many preclinical studies have been developed to discover new drugs for treating leishmaniasis. Considering the numerous publications on the subject in murine models, a translational gap exists between animal experimentation and the use of substances in humans. Therefore, there is a need to generate robust evidence on the efficacy of new anti-*Leishmania* drugs in mice. Thus, this study aimed to synthesize the evidence on the effectiveness of anti-*Leishmania* agents in murine models. For this purpose, an overview of systematic reviews was prepared to synthesize and assess the level of evidence on the efficacy of leishmanicidal drugs in murine models. The research protocol was registered in the Open Science Framework. The scientific question, search strategy, and eligibility criteria were developed according to the acronym PICOS. The search was performed in five central databases (PubMed, EMBASE, Web of Science, Scopus, and Lilacs, in 2024), without restriction on publication time and language. Two independent researchers conducted eligibility assessments, data extraction, and risk of bias analyses. An expert in the research topic resolved any discrepancies. Of 400 studies retrieved in the databases, 12 were included in this study. BALB/c mice were the most commonly used for testing substances in CL models. The most frequently used *Leishmania* species in animal models were *L. major* and *L. amazonensis*, which were inoculated in the paw or base of the tail. Most primary studies initiated treatment after the appearance of the skin lesion (~30 days after parasite inoculation). The interventions included reference drugs, plants, oils, extracts, and isolated or combined compounds. The parameters of lesion size, parasite load, and complete lesion healing were the investigated outcomes. Nanoparticles were the most promising strategy for reducing lesion size and parasite load. Plants and their derivatives, nanoparticulate substances, and drug combinations have shown promise for treating CL in preclinical studies; however, significant methodological heterogeneity was observed among the studies, and essential gaps in animal experimentation were identified. Although most SRs presented a low risk of bias, the limitations identified in the methodological aspects suggest the need for greater rigor in conducting and reporting this type of study to ensure greater reliability and applicability of the findings in clinical and scientific practice. It is strongly recommended that SRs follow the PRISMA recommendations, assess the risk of bias in experimental studies using tools such as SYRCLE, and consider this result when analyzing the evidence.

Keywords: leishmaniasis; mice; antiprotozoal agent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Casos de leishmaniose cutânea no Brasil	20
Figura 2 – Formas promastigota (A) e macrófago infectado por múltiplas amastigotas no vacúolo parasitóforo (B) de <i>Leishmania</i> spp., corados pelo método de Giemsa	21
Figura 3 - Ciclo biológico da <i>Leishmania</i> spp.	22
Figura 4 - Lesões de leishmaniose cutânea	23
Figura 5 - Lesões de leishmaniose mucocutânea	24
Figura 6 - Pacientes com leishmaniose visceral em fase aguda	24
Figura 7 - Formas amastigotas de <i>Leishmania</i> em tecido corado pelo método de Giemsa	25
Figura 8 - Identificação e registros dos estudos via base de dados	39

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1- Protocolo de tratamento das leishmanioses recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil	27
Quadro 2- Itens do <i>checklist</i> a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise	31
Quadro 3- Ferramenta AMSTAR 2 (tradução livre para o português)	33
Tabela 1- Critérios de inclusão e exclusão de acordo com o acrônimo PICOS	35
Tabela 2 - Estratégia de busca	36
Tabela 3- Características dos estudos incluídos na revisão	40
Tabela 4 - Características dos modelos murinos	41
Tabela 5 - Características da infecção por <i>Leishmania</i> spp. e tratamento	43
Tabela 6 - Tipo de intervenção e principais resultados plantas e derivados naturais	45
Tabela 7 - Tipo de intervenção e principais resultados: substâncias nanoparticuladas	50
Tabela 8 - Tipo de intervenção e principais resultados: combinações de substâncias e TFD	53
Quadro 4- Vieses, limitações e outras características das RSs incluídas da <i>overview</i>	53
Tabela 9 - Resumo da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos utilizando a ferramenta AMSTAR 2	54
Quadro 5- Lista de itens de recomendações para estudos pré-clínicos que avaliam a eficácia e a segurança de substâncias para o tratamento da leishmaniose cutânea	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Sigla	Significado
ALA	Ácido aminolevulínico
AMB	Anfotericina B
AmB-MTF	Anfotericina B-miltefosina
AMSTAR	Avaliação de Múltiplas Revisões Sistemáticas
APG	Apigenina
AU	Ácido ursólico
BA	Ácido betulínico
BPQ	Buparvaquona
CH	Quitosana
CTZ	Cetoconazol
CuNPs	Nanopartículas de cobre verde
CUR	Curcumina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EMBASE	<i>Excerpta Medica dataBASE</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IFN- γ	Interferon-gamma
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
ITZ	Itraconazol
L-Amb	AmB lipossomal
LC	Leishmaniose cutânea
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

LM	Leishmaniose mucocutânea
LV	Leishmaniose visceral
MA	Meglumina
MNPs	Nanopartículas metálicas
MSNPs	Nanopartículas de prata mirra
MTF	Miltefosina
NK	<i>Natural Killer</i>
NNN	Novy-MacNeal-Nicolle
NO	Óxido nítrico
NP	Nanopartículas
OE	Óleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
OSF	Open Science Framework
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PICO	População, Intervenção, Comparador, Outcome
PICOS	População, Intervenção, Comparador, Outcome, Study
PpIX	Protoporfirina IX
PRISMA	Itens de Relato Preferencial para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RS	Revisão Sistemática
SA	Estearilamina
SGNTs	Nanotransferossomas de 2ª geração
SGUDLs	Lipossomas ultra deformáveis de 2ª geração
SSG	Estibogluconato de sódio
TFD	Terapia Fotodinâmica
Th1	T <i>helper</i> do tipo 1

Th2	T <i>helper</i> do tipo 2
Tomilho	Thymus vulgaris
TPP	Tripolifosfato de sódio
URO	Uroporfirinogênio I
UV	Ultravioleta
WoS	<i>Web of Science</i>
Yarrow	<i>Achillea millefolium</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo geral	18
1.1.2	Objetivos específicos	18
1.2	PERGUNTA CIENTÍFICA	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1	EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES	19
2.2	CICLO DE VIDA	21
2.3	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	22
2.4	DIAGNÓSTICO DAS LEISHMANIOSES	24
2.5	TRATAMENTO	26
2.6	MODELO MURINO PARA O ESTUDO DAS LEISHMANIOSES	28
2.7	REVISÃO SISTEMÁTICA	29
3	METODOLOGIA	34
3.1	DESENHO DO ESTUDO	34
3.2	ESTRATÉGIA DE BUSCA	35
3.3	SELEÇÃO DOS ESTUDOS	36
3.4	EXTRAÇÃO DOS DADOS	37
3.5	QUALIDADE DOS ESTUDOS DE REVISÃO SISTEMÁTICA	37
4	RESULTADOS	38
4.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS	38
4.2	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS (ESPÉCIE, SEXO, FAIXA ETÁRIA E FAIXA DE PESO	41
4.3	CARACTERÍSTICA DO MODELO DE INFECÇÃO ANIMAL	42
4.4	INTERVENÇÕES E PRINCIPAIS ACHADOS	44
4.4.1	PLANTAS E DERIVADOS (N = 7)	44
4.4.2	SUBSTÂNCIAS NANOPARTICULADAS (N = 3)	49

4.4.3	COMBINAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS (N = 1) E TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD) (N = 1)	52
4.5	QUALIDADE METODOLÓGICA	53
5	DISCUSSÃO	58
6	CONCLUSÃO	78
7	REFERÊNCIAS	79
8	APÊNDICES	91
	APÊNDICE A – ESTUDOS INCLUÍDOS (N = 12) E EXCLUÍDOS (COM AS RAZÕES DE EXCLUSÃO, N= 24)	91
	APÊNDICE B – LINK DA TABELA DE EXTRAÇÃO DE DADOS COMPLETA DISPONÍVEL EM EXCEL	93
	APÊNDICE C - Recommendations for preclinical studies evaluating the efficacy and safety of substances for cutaneous leishmaniasis treatment	94

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é considerada uma doença negligenciada e um importante problema de saúde pública em diversas regiões do mundo como: Américas, África Oriental, Norte da África e Oeste e Sudeste Asiático. Esta doença afeta algumas das pessoas mais pobres do mundo e está associada à desnutrição, sistema imunológico enfraquecido, moradia precária e falta de recursos financeiros (WHO e OPAS, 2024). Globalmente, uma média de 350 milhões de pessoas vivem em áreas que foram caracterizadas pela transmissão ativa do parasito *Leishmania* (Akbari *et al.*, 2021). Estima-se que anualmente surjam de setecentos mil a um milhão de novos casos de leishmaniose (WHO, 2024). Além disso, aproximadamente 60.000 mortes devido a esta doença parasitária foram relatadas anualmente no mundo (Akbari, *et al.*, 2021).

Em humanos, a infecção é causada por aproximadamente 20 espécies do protozoário do gênero *Leishmania*. Estes parasitos são transmitidos pela fêmea do flebotomíneo na picada da pele durante o seu repasto sanguíneo (Loiseau, *et al.* 2020). Existem três manifestações clínicas principais descritas: a leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LM) e a leishmaniose visceral (LV). A LC é a forma mais comum e pode levar à desfiguração e estigmatização (Loiseau, *et al.*, 2020). Na LM, as lesões frequentemente acometem a mucosa nasal e pode se estender para o palato. Essas manifestações (LC e LM) compõem o espectro da leishmaniose tegumentar (LT) (OPAS; WHO, 2023). E a LV, também conhecida como calazar, é a forma mais grave e fatal da doença na ausência de tratamento. Ambas manifestações podem também afetar cães (Loiseau, *et al.*, 2020 e Pradhan *et al.*, 2022).

O tratamento das leishmanioses é uma das formas de controlar essas doenças, em conjunto com um controle vetorial mais intenso. Existem algumas opções de tratamento para as leishmanioses que incluem os antimoniais pentavalentes: antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio (Glucantime® e Pentostam®, respectivamente), que são as terapias de primeira escolha. E como segunda opção medicamentosa, a anfotericina B e a anfotericina B lipossomal (AmBisome®; L-Amb), e outros medicamentos como paromomicina e miltefosina (Impavido®) (Loiseau, *et al.*, 2020). Contudo, somente a miltefosina está disponível na opção oral (Loiseau, *et al.*, 2020), os demais medicamentos ou são administrados pela via parenteral ou intralesional (Kammona e Tsanaktidou, 2021).

Por este motivo, devido a necessidade de múltiplas injeções (Pradhan *et al.*, 2022), alta toxicidade, esquema terapêutico prolongado e hospitalização, o tratamento acaba resultando em uma baixa adesão dos pacientes e leva a resistência aos medicamentos

(Kammona e Tsanaksidou, 2021). Outros fatores relacionados a estas terapias de primeira e segunda escolha é que possuem alto custo, efeitos adversos significativos e eficácia variável. Assim, há uma urgência em se encontrar agentes terapêuticos seguros, mais eficientes e acessíveis, de curta duração, orais e adaptados ao campo para o tratamento das leishmanioses (Loiseau *et al.*, 2020).

Nesse cenário, os modelos murinos têm sido amplamente utilizados para ensaios pré-clínicos, devido ao fato das linhagens de camundongos serem altamente padronizadas, terem características conhecidas e capazes de serem monitoradas após várias gerações, e também por compartilhar similaridades genéticas e fisiológicas com os humanos, o que possibilita estudar diversas características da progressão da doença nestes modelos (Pantaleão e Luchs, 2010). Os modelos de camundongos possibilitam que novos alvos terapêuticos, abordagens para prevenção e tratamento das doenças sejam desenvolvidas (Hann e Balmain, 2001).

Diante dos inúmeros estudos primários publicados na literatura e em desenvolvimento, as Revisões Sistemáticas tornaram-se um dos melhores instrumentos para fazer a síntese das evidências desses estudos. Segundo Canto (2020) “são evidências transparentes e de síntese de resultados empíricos de pesquisas primárias abordando uma ou mais questões referentes a qualquer problema de saúde, intervenção ou decisão política”. Dessa forma, as RSs são cada vez mais utilizadas por pesquisadores, pacientes e gestores da saúde para auxiliar no processo de tomada de decisão, já que elas oferecem uma síntese confiável e imparcial sobre a segurança e eficácia de uma intervenção (Canto, 2020).

Portanto, foi realizada uma *Overview* de Revisão Sistemática (RS) para analisar a eficácia de novos agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos, a fim de verificar a qualidade das evidências científicas disponíveis em relação ao tema. Pois a busca de resultados assertivos em pesquisa em saúde para a tomada de decisão quanto ao tipo de intervenção mais apropriada e de menor risco, devem ser baseadas em princípios e métodos científicos rigorosos e pré-estabelecidos para o levantamento e análise de tais evidências (Canto, 2020). Além disso, a realização dessa *Overview* pode contribuir para a padronização dos testes experimentais, evitar a repetição de ensaios desnecessários com animais e otimizar recursos, promovendo maior reprodutibilidade e confiabilidade nos estudos pré-clínicos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Elaborar uma revisão de revisões sistemáticas para analisar as evidências sobre a eficácia de agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos por meio de uma *overview* de revisão sistemática da literatura.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Identificar estudos de revisões sistemática na literatura científica sobre a eficácia de medicamentos no tratamento das leishmanioses em modelos murinos;
- Avaliar criticamente a qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão;
- Fornecer o nível da evidência para eficácia e segurança dos medicamentos anti-*Leishmania* em modelos murinos;
- Elaborar uma lista de itens de recomendações para estudos pré-clínicos que avaliam a eficácia e a segurança de substâncias para o tratamento da leishmaniose cutânea.

1.2 PERGUNTA CIENTÍFICA

O que sabemos até agora sobre a eficácia de novos agentes anti-*Leishmania* quando comparados a tratamentos de referência ou placebo em modelos murinos, bem como a confiança geral das revisões sistemáticas sobre esse tópico?

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES

As leishmanioses são um complexo de doenças causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, caracterizadas por lesões na pele, mucosa e/ou vísceras. Elas podem ser classificadas de acordo com sua ocorrência geográfica em: leishmaniose do Velho Mundo, existente na região do Hemisfério Oriental e endêmica na Ásia, África e sul da Europa, e leishmaniose do Novo Mundo, que é endêmica na região do Hemisfério Ocidental, abrangendo áreas que vão desde o centro-sul do Texas até a América Central e do Sul (exceto Chile e Uruguai) (Nieva *et al.*, 2021).

Em humanos, essas doenças são causadas por mais de 20 espécies do protozoário intracelular obrigatório do gênero *Leishmania* da família *Trypanosomatidae*. Estes parasitos são transmitidos a partir da picada de flebotomíneos fêmeas do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo, que inoculam os parasitos na pele do hospedeiro (Araújo *et al.*, 2019; Nieva *et al.*, 2021; WHO, 2023). As lesões se iniciam no local da picada, e o parasito dissemina-se pelo sangue, contiguidade e via linfática, podendo atingir órgãos e outros tecidos e evoluir para as formas mais graves da doença (WHO, 2024).

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), as leishmanioses são consideradas doenças negligenciadas, vinculadas à pobreza e a países de regiões tropicais e subtropicais, afetando predominantemente pessoas de baixa renda que vivem nas Américas, Bacia do Mediterrâneo, África Oriental e Sudeste Asiático (Ghorbani; Farhoudi, 2017). As leishmanioses estão entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas no mundo sendo endêmicas em 99 países, com mais de 12 milhões de pessoas infectadas (OPAS; WHO, 2024) e estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas vivam nessas áreas e correm risco de infecção (WHO, 2023).

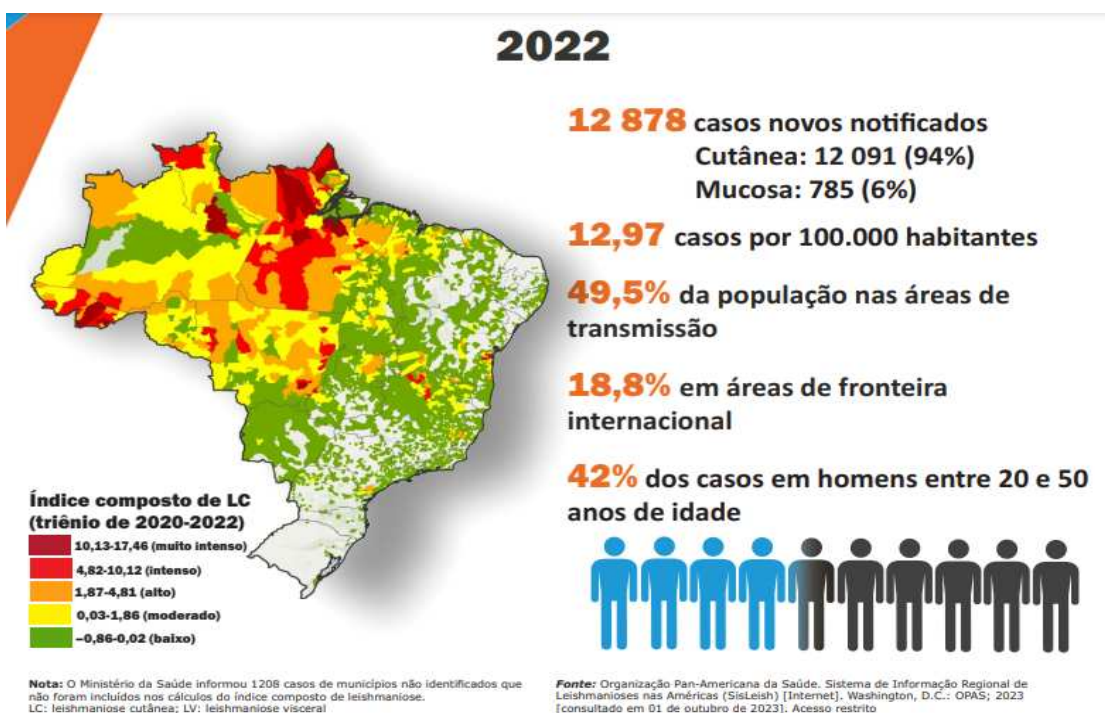
De acordo com a OPAS e a OMS, em 2021, dos nove países que detém 85% dos casos de leishmaniose cutânea notificados, Brasil, Colômbia e Peru são os que registram a doença na região das Américas. Nestes três países, nos últimos 20 anos, foram registrados cerca de 52.645 casos de leishmaniose tegumentar (leishmaniose cutânea e leishmaniose mucocutânea) (OPAS; WHO, 2024).

Já a LV, nas Américas, foi registrada em 13 países (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Paraguai,

Uruguai e Venezuela), contudo 93% dos casos ocorreram no Brasil. Os registros dos últimos cinco anos apontaram cerca de 2.850 casos de LV, com letalidade média de 8,2% (OPAS; WHO, 2024).

No Brasil, o maior número de casos de leishmaniose se encontra no meio rural, pois a falta de investimentos estruturais em saneamento, atenção à saúde e educação básica, são muito frequentes (FIOCRUZ, 2024). Dados do Ministério da Saúde indicam que, em 2023, o Brasil registrou aproximadamente 13 mil casos novos de leishmaniose tegumentar, correspondendo a uma taxa de detecção de 8,26 casos por 100.000 habitantes. Desses, 7,15% evoluíram para a forma mucosa da doença. A Região Norte concentrou o maior número de registros, totalizando 5.927 casos (Figura 1). Já a forma mais grave da doença, a LV, teve notificados 1.461 casos, com taxa de letalidade de 8,60% e totalizou 148 óbitos, porém a Região mais afetada foi a Nordeste, com a notificação de 653 casos (Brasil, 2024). Essas informações são válidas para monitorar e traçar o perfil das diferentes formas clínicas, e também para implementar estratégias que almejam a eliminação da doença (FIOCRUZ, 2024).

Figura 1 - Casos de leishmaniose cutânea e mucosa no Brasil

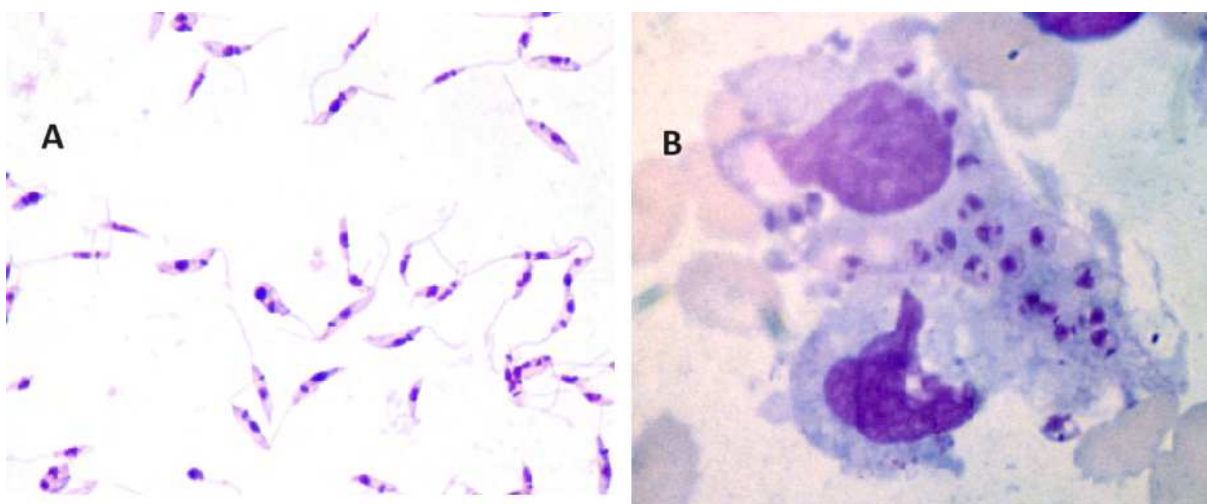


Fonte: OPAS, 2023

2.2 CICLO DE VIDA

Os parasitos do gênero *Leishmania* se caracterizam por apresentar duas formas evolutivas principais: amastigota e promastigota (Figura 1). A amastigota é a forma intracelular nos hospedeiros vertebrados, tem estrutura arredondada e flagelo interno. A promastigota tem forma alongada, flagelo livre e parasita o tubo digestivo de hospedeiros invertebrados, nas quais as formas metacíclicas são as infectantes (Rey, 1991).

Figura 2 – Formas promastigota (A) e macrófago infectado por múltiplas amastigotas no vacúolo parasitóforo (B) de *Leishmania* spp., corados pelo método de Giemsa

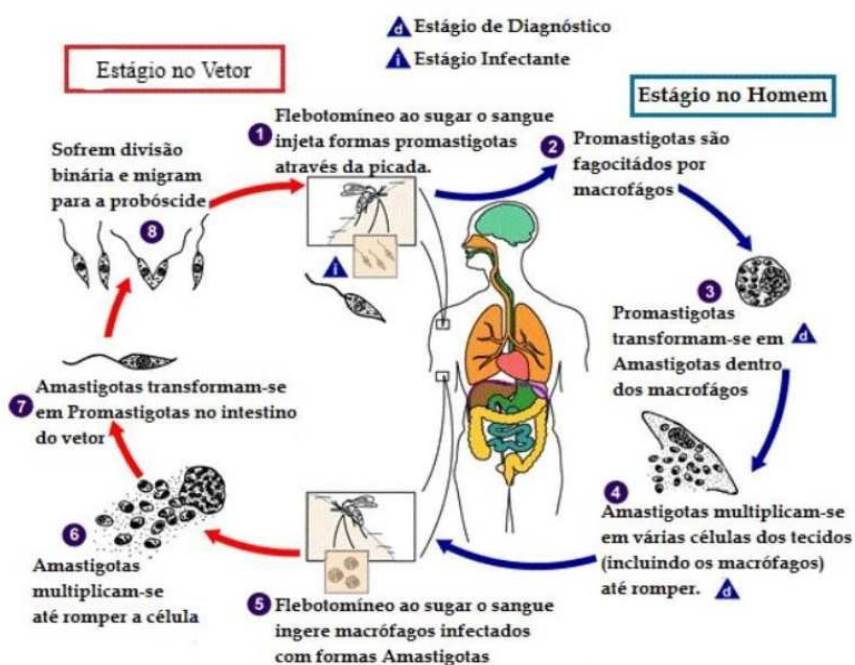


Fonte: Adaptado do Atlas interativo de Leishmanioses nas Américas OPAS (2021)

O complexo ciclo biológico do parasito *Leishmania* (Figura 3) envolve diferentes estágios e hospedeiros (Nieva *et al.*, 2021). O ciclo biológico no inseto vetor se inicia quando as fêmeas dos flebotomíneos, durante o repasto sanguíneo, ingerem células infectadas com formas amastigotas de *Leishmania* do hospedeiro vertebrado infectado. No intestino médio, após lise celular pela ação de enzimas presentes na saliva e sistema digestivo do vetor, as formas amastigotas se transformam em promastigotas que se multiplicam no trato intestinal por divisão binária e migram para a parte anterior do intestino médio do inseto onde se transformam em promastigotas metacíclicas. Na picada, as formas promastigotas metacíclicas são regurgitadas pelas fêmeas dos insetos vetores durante o repasto sanguíneo, ocorrendo a infecção de um novo hospedeiro vertebrado (Dedet; Pratlong, 2003; Basano; Camargo, 2004). As promastigotas são internalizadas por endocitose mediada pela ligação com receptores na

superfície de macrófagos, alojando-se dentro dos fagossomos, onde se transformam em amastigotas, que se multiplicam por divisão binária até romperem a célula, e sendo internalizados por outros macrófagos (Rey, 1991; Basano; Camargo, 2004). Os macrófagos são considerados a principal linha de defesa contra a infecção, uma vez que produzem óxido nítrico e reativos de oxigênio que são microbicidas para a *Leishmania*. Outras células também estão envolvidas no processo de controle da infecção, como as células dendríticas, neutrófilos e linfócitos T e *natural killer* (NK) (Serrano-Coll *et al.*, 2021).

Figura 3 - Ciclo biológico da *Leishmania* spp.



Fonte: Adaptado do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2018

2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

No Velho Mundo, a LC é causada pelas seguintes espécies: *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, e *L. infantum*. Já no Novo Mundo, as principais espécies causadoras de LC são *L. infantum chagasi* (anteriormente nomeada como *L. chagasi*), além do complexo de espécies *L. mexicana* (*L. mexicana*, *L. amazonensis* e *L. venezuelensis*) e do subgênero *Viannia* (*L. [V.] braziliensis*, *L. [V.] guyanensis*, *L. [V.] panamensis*, e *L. [V.] peruviana*). No que diz respeito a LM, as principais espécies causadoras são as do subgênero *Viannia* (*L. [V.] braziliensis*, *L. [V.] panamensis* e *L. [V.] guyanensis*) e *L. (L.) amazonensis*. E por fim, *L. donovani* e *L. infantum* são as principais causadoras da leishmaniose visceral (CDC, 2024).

Clinicamente a doença pode se apresentar de três principais formas: leishmaniose cutânea, leishmaniose mucocutânea (LM) e, mais gravemente, leishmaniose visceral. Essas apresentações estão associadas a diferentes espécies de *Leishmania*, responsáveis pela diversidade das manifestações clínicas da doença (Ghorbani; Farhoudi, 2017).

A leishmaniose cutânea (Figura 4) é caracterizada por uma lesão na pele com aspecto de mácula, que evolui para uma pápula e posteriormente para um nódulo arredondado, indolor, que aumenta progressivamente de tamanho até se tornar uma úlcera. A lesão, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção, pode se resolver espontaneamente, ou evoluir para outras formas clínicas, como disseminada, difusa e mucosa (Brasil, 2017).

Figura 4 - Lesões de leishmaniose cutânea



Fonte: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasil, 2017

Já na LM (Figura 5), o local mais frequentemente acometido é a mucosa do septo nasal e pode evoluir para perfuração, além de lesão na pele. O processo pode se estender ao palato e à faringe; a úvula apresenta infiltração, hipertrofia e, por fim, pode chegar a auto amputação, trata-se de uma forma clínica desfigurante podendo gerar danos psicossociais. Este tipo de leishmaniose também está relacionado ao tipo de espécie de *Leishmania* infectante e geralmente ocorre de forma secundária a leishmaniose cutânea não tratada adequadamente ou recidiva (OPAS; WHO, 2023).

Figura 5 - Lesões de leishmaniose mucocutânea



Fonte: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasil, 2017

A forma mais grave e potencialmente fatal da doença, é a LV (Figura 6) causada pelo complexo de espécies *L. donovani*, e que se caracteriza por apresentar febre irregular, perda de peso, inchaço do baço e do fígado e anemia grave, e infecção visceral geralmente disseminada do sistema reticuloendotelial e que se não for rapidamente tratada, pode evoluir para óbito em mais de 90% dos casos (Akbari, *et al.* 2021). Estima-se que 30.000 novos casos de LV e mais de 1 milhão de novos casos de LC ocorram anualmente (WHO, 2024).

Figura 6 - Pacientes com leishmaniose visceral em fase aguda



Fonte: Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Ministério da Saúde, 2014

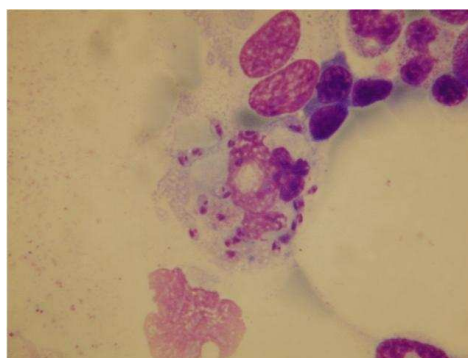
2.4 DIAGNÓSTICO DAS LEISHMANIOSES

O aparecimento de lesões sugestivas de leishmaniose leva a um diagnóstico presuntivo baseado em critérios clínicos e epidemiológicos que devem ser complementados por meio de diagnósticos laboratoriais (Brasil, 2017). Vários são os métodos laboratoriais que podem ser usados para diagnosticar a leishmaniose, seja detectando o parasito ou identificando as espécies de *Leishmania*. Contudo, alguns dos métodos estão disponíveis apenas em laboratórios de referência (CDC, 2024). Todas estas informações são importantes para orientar um estudo epidemiológico quanto às medidas a serem adotadas para o controle

do agravamento, bem como qual é a melhor terapia a ser utilizada para tratar aquele paciente (Brasil, 2017).

Inicialmente, para se ter certeza de um processo infeccioso, o diagnóstico é feito por método parasitológico antes do início do tratamento, já que diante de um quadro de infecção há o encontro do parasito nos tecidos ou fluidos biológicos dos hospedeiros. O procedimento de primeira escolha é o de demonstração direta do parasito na lesão ou medula óssea, por ser mais rápido, de menor custo e de fácil execução (Brasil, 2017). A partir da microscopia óptica comum, as amastigotas são visualizadas diretamente em esfregaços lesionais de biópsias, raspagens ou esfregaços de impressão corados por Giemsa. Os amastigotas tem aparência arredondada ou oval com cerca de 2 a 4 µm de diâmetro, com núcleos e cinetoplastos típicos (Figura 7). Por meio da reação de imunohistoquímica, por exemplo, anticorpos CD1a, as amastigotas podem ser encontradas mais facilmente (de Vries e Schallig, 2022).

Figura 7 - Formas amastigotas de *Leishmania* em tecido corado pelo método de Giemsa



Fonte: Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. Am J Clin Dermatol. 2022

Tem-se também o de isolamento em cultivo *in vitro* (meios de cultura, como o meio NNN, Novy-MacNeal-Nicolle) que, além de confirmar a presença do agente etiológico, permite a identificação da espécie de *Leishmania* por métodos moleculares (Brasil, 2017). Contudo, este tipo de procedimento em meio NNN é difícil, requer conhecimento técnico significativo, está propenso à contaminação, além de consumir muito tempo (de Vries e Schallig, 2022).

O teste molecular que detecta DNA de *Leishmania*, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), é um método de alta sensibilidade e especificidade que utiliza diversos

alvos moleculares, entretanto é uma técnica de custo elevado e que exige infraestrutura laboratorial especializada (Brasil, 2017; OPAS; WHO, 2024).

Em relação aos exames indiretos, os testes de imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos (ELISA, do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent assay*) são utilizados para detecção de pesquisa de anticorpos IgG anti-*Leishmania* no soro. O teste rápido imunocromatográfico disponível atualmente é para LV, que é baseado na detecção de anticorpos no sangue contra o antígeno recombinante rK39. Este teste pode ser utilizado na atenção primária e principalmente em locais com difícil acesso e falta de equipamentos (OPAS; WHO, 2024).

2.5 TRATAMENTO

O tratamento de primeira escolha indicado é a administração de antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio, sendo este último não disponível no Brasil (Brasil, 2017). Porém, estes medicamentos estão associados a cardiotoxicidade, cirrose, toxicidade pancreática e risco de resistência (Pradhan *et al.*, 2022) (Quadro 1). Como segunda opção medicamentosa, no caso de resistência aos antimoniais, tem-se utilizado anfotericina B (AMB), AMB lipossomal e também pentamidina, miltefosina e paromomicina como alternativas (Quadro 1). Todavia, estes fármacos também têm reações adversas associadas e elevada toxicidade, algumas requerem administração parenteral, o que pode precisar de administração por um profissional de saúde, hospitalização, tratamento a longo prazo e são frequentemente de alto custo, então, por estas razões, muitos pacientes abandonam o tratamento (Assolini *et al.*, 2022).

Diante dessas limitações terapêuticas e da alta carga imposta por essas enfermidades, as doenças tropicais negligenciadas, até recentemente, não receberam muito investimento em pesquisa quanto às outras doenças (Nweze *et al.*, 2021). Porém, na última década, devido aos esforços de instituições de pesquisa e algumas empresas farmacêuticas, a situação destas doenças negligenciadas vem mudando gradativamente. Mesmo assim, apesar da natureza promissora dos medicamentos atualmente disponíveis ao longo dos anos, há muitas limitações - má absorção, resistência, falta de eficácia, toxicidade e longa duração do tratamento - ao seu uso contínuo, o que sugere que a introdução de novos medicamentos é necessária (Nweze *et al.*, 2021).

Quadro 1 - Protocolo de tratamento das leishmanioses recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil

Antimoniato de N-metil glucamina	
Apresentação	Ampolas de 5 mL contendo 1.500 mg (300 mg/mL) de antimoniato de N-metil glucamina, equivalentes a 405 mg (81 mg/mL) de antimônio pentavalente (Sb+5).
Dose e via de aplicação	LV: 20 mg/Sb+5/kg/dia por via endovenosa ou intramuscular, uma vez ao dia, durante 30 dias. A dose prescrita refere-se ao antimônio pentavalente (Sb+5). Dose máxima de 3 ampolas ao dia.
	LTA: 0 esquema terapêutico é preconizado para as diversas formas clínicas a seguir: Leishmaniose cutânea: 10-20 mg/Sb+5/Kg/dia por 20 dias (recomenda-se a dose de 15 mg/Sb+5/Kg/dia) Leishmaniose difusa: 20 mg/Sb+5/Kg/dia por 20 dias Leishmaniose mucosa: 20 mg/Sb+5/Kg/dia por 30 dias
Desoxicolato de anfotericina B	
Apresentação	Frasco com 50 mg de desoxicolato sódico de anfotericina B liofilizada.
Dose e via de aplicação	LV: 1 mg/kg/dia por infusão venosa durante 14 a 20 dias. A decisão quanto à duração do tratamento deve ser baseada na evolução clínica, considerando a velocidade da resposta e a presença de co-morbidades.
	Dose máxima diária de 50mg. LTA: Início - 1 mg/Kg/dia diariamente ou em dias alternados, com dose diária máxima de 50 mg. Deve ser administrada até atingir as seguintes doses: Forma cutânea: 1 a 1,5 g Forma mucosa: 2,5 a 3 g
Anfotericina B lipossomal	
Apresentação	Frasco/ampola com 50 mg de anfotericina B lipossomal liofilizada.
Dose e via de aplicação	LV: 3 mg/kg/dia, durante 7 dias ou 4 mg/kg/dia, durante 5 dias em infusão venosa, em uma dose diária.
	LTA: 1 a 4 mg/Kg/dia diariamente por infusão venosa, em dose única, sem limite de dose diária até atingir as seguintes dose totais: Forma cutânea: 1 a 1,5 g Forma mucosa: 2,5 a 3 g

Fonte: Adaptado de Guia de Vigilância Epidemiológica, 2009 (Pelissari *et al.*, 2011)

Desta forma, outras alternativas terapêuticas, principalmente aquelas relacionadas aos componentes naturais, têm sido estudadas para que seja possível um tratamento com compostos mais eficazes e com baixa toxicidade para o tratamento da doença (Gandhi *et al.*, 2023; Orosco *et al.*, 2024). Plantas medicinais são largamente utilizadas em terapias tradicionais para tratar doenças parasitárias e atualmente têm recebido atenção especial à busca por novos tratamentos contra a leishmaniose. Por isso, diversas plantas e seus respectivos compostos isolados, como alcaloides, flavonoides, terpenos, dentre outros, têm sido estudados para o tratamento da leishmaniose e estão se mostrando promissores agentes anti-*Leishmania* (Melo *et al.*, 2016).

Antifúngicos azólicos também foram estudados e se descobriu que o itraconazol é superior ao cetoconazol e ao fluconazol na inibição do crescimento da maioria das cepas de *Leishmania* (Pradhan *et al.*, 2022). Além disso, a eficácia do tratamento depende das espécies de *Leishmania* envolvidas na infecção, uma vez que algumas espécies são mais resistentes a

alguns fármacos (Berbert *et al.*, 2018). Por isso, inúmeros estudos pré-clínicos têm sido publicados na tentativa de descobrir novos fármacos anti-*Leishmania*, e para isso, os modelos murinos têm sido os mais empregados.

2.6 MODELO MURINO PARA O ESTUDO DAS LEISHMANIOSES

Para a pesquisa de novos fármacos com atividade leishmanicida, os modelos experimentais animais são muito utilizados para se estabelecer a eficácia e segurança em estudos pré-clínicos, antes do uso em seres humanos. Os camundongos BALB/c são frequentemente escolhidos como modelos destes estudos devido a sua alta suscetibilidade à algumas espécies de *Leishmania*, e também pela possibilidade de trabalhar com linhagens consanguíneas reduzindo assim as variações genéticas entre indivíduos do mesmo grupo experimental (Rolão *et al.*, 2004). A imunidade do hospedeiro e a virulência da cepa são fatores que determinam o resultado da infecção experimental, além do número de parasitas inoculados e da rota de inoculação. A maioria dos estudos com LV, por exemplo, utiliza a via endovenosa ou intraperitoneal para inocular os parasitos das espécies *L. donovani* e *L. infantum*, e para LC, a via subcutânea e intradérmica são mais utilizadas para inocular *L. braziliensis*, *L. major* e *L. amazonensis* (Rolão *et al.*, 2004).

Visto então que, o processo que estabelece uma infecção no hospedeiro é determinado por uma associação complexa entre a espécie do parasito, seus fatores de virulência e a resposta imune do hospedeiro, e também foram identificados padrões distintos em relação à resposta imune celular através da utilização de modelos animais para a leishmaniose (Assolini *et al.*, 2022). Por exemplo, a resistência no modelo murino de infecção por *L. major*, está relacionada à capacidade dos linfócitos T CD4⁺ (subconjunto T helper do tipo 1, Th1) de produzir citocinas inflamatórias, como o interferon-gama (IFN- γ), que ativa o macrófago parasitado para matar a *Leishmania* intracelular a partir da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO) (Melby *et al.*, 1998; Assolini *et al.*, 2022). Por outro lado, em camundongos suscetíveis, a infecção levou à progressão da doença associada à ativação alternativa dos macrófagos pela ação de citocinas anti-inflamatórias do tipo T helper 2 (Th2) (IL-4, IL-5, IL-13), que inibem a ativação dos macrófagos efetores favorecendo assim a sobrevivência do parasito e desenvolvimento da infecção (Assolini *et al.*, 2022).

As vantagens do estudo com animais incluem, então, aspectos que não podem ser considerados em ensaios clínicos, como o fato de estarem facilmente disponíveis e acessíveis. Por exemplo, nos camundongos, os órgãos e tecidos onde os parasitas podem sobreviver ou

serem sequestrados podem ser facilmente acessados, o que permite analisar minuciosamente a progressão da doença. Muitos são os modelos animais utilizados em pesquisas científicas, porém os roedores são os que mais se destacam devido à ampla vantagem que oferecem, como custo, quantidade, e principalmente similaridade genética com os humanos que possibilitam o uso como modelo experimental para uma grande variedade de doenças (Teixeira; Gomes, 2013).

Os experimentos mais comumente realizados para o estudo das leishmanioses em modelos animais incluem:

- Estudos de infectividade e patogenicidade: Para avaliar a evolução clínica e o desenvolvimento de lesões (Bogdan *et al.*, 2019);
- Ensaios terapêuticos: Teste de fármacos, compostos naturais e novas formulações, medindo desfechos como redução de carga parasitária, cicatrização de lesões e resposta imunológica (Hooijmans *et al.*, 2014);
- Avaliação imunológica: Estudo da modulação da resposta imune, incluindo liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias (Sacks; Melby, 2015);
- Ensaios in vivo de persistência e reativação: Para investigar a presença de estágios latentes do parasito após tratamentos (Saber *et al.*, 2020).

Esses experimentos permitem compreender a eficácia de tratamentos e a interação parasito-hospedeiro, sendo fundamentais para o desenvolvimento de novas terapias e para validação de modelos pré-clínicos (Hooijmans *et al.*, 2014; Raimundo *et al.*, 2022; Saber *et al.*, 2020). Nesse sentido, os modelos murinos são amplamente utilizados para compreender os mecanismos fisiopatológicos da leishmaniose e descobrir novos agentes anti-*Leishmania*, desta forma muitas revisões sistemáticas têm sido geradas sobre o tema.

2.7 REVISÃO SISTEMÁTICA

Muitas revisões sistemáticas sintetizam estudos envolvendo o desenvolvimento de novas terapias para leishmaniose que vem sendo publicadas (Correa-Barbosa *et al.*, 2014; de Lara da Silva *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021; Raimundo *et al.*, 2022; Ramos-Milaré *et al.*, 2022; Santana *et al.*, 2022; Saber *et al.*, 2021; Cabral *et al.*, 2021). Assim, neste estudo, pretendemos identificar as melhores evidências sobre a eficácia de novas terapias contra as leishmanioses testadas em modelos murinos a partir do desenvolvimento de uma *overview* de revisões sistemáticas. As revisões sistemáticas são um tipo de estudo secundário que

objetivam sintetizar os resultados de pesquisas primárias abordando uma ou mais questões referentes a qualquer problema de saúde, intervenções ou decisão política (Canto, 2020), e avaliá-los criticamente quanto a sua metodologia. Elas se baseiam nos critérios de elegibilidade para responder uma pergunta de pesquisa estruturada no acrônimo PICOS (População, Intervenção, Comparador, Desfecho – em inglês, outcome e Tipo de estudo - em inglês, study) (Brasil, 2021).

O estudo de revisão sistemática leva em conta métodos criteriosos, explícitos e reprodutíveis, para diminuir o risco de viés dos estudos primários. A busca pelos artigos é realizada sistematicamente, através de várias bases de dados, com o uso de uma estratégia de busca ampla e sensível, e desta forma compreender as inconsistências nos resultados, fornecer evidências transparentes e resultados confiáveis para a tomada de decisão (Brasil, 2021; Canto, 2020).

Quando uma RS é realizada de forma correta e transparente, elas são a melhor evidência disponível para avaliar a efetividade, a eficácia e a segurança de tecnologias, e auxiliam os profissionais de saúde na tomada de decisões e nas políticas públicas de saúde, fornecendo um resumo conveniente e imparcial das evidências sobre um determinado tópico. Ademais, a RS identifica lacunas sobre a pergunta científica que ainda necessita de respostas e também novas questões que possam surgir. Por se tratar de um método explícito e sistemático que busca avaliar e sintetizar as evidências de pesquisa por meio das diretrizes sobre a conduta de uma revisão, as revisões sistemáticas são um tipo de metodologia de pesquisa confiável, rigorosa e reprodutível, muito utilizada nos cuidados de saúde para elaboração de diretrizes, guias e notas técnicas (Brasil, 2021; Canto, 2020). As revisões sistemáticas em modelos animais têm sido cada vez mais requisitadas na pesquisa pré-clínica e agências sanitárias para a liberação e desenvolvimento de novos fármacos para uso veterinário e sem seres humanos (Soliman; Rice; Vollert, 2020).

Para o relatório das RS, é recomendado a utilização do PRISMA (Itens de Relato Preferencial para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises), que se baseia em uma lista de 27 itens para serem verificados (Quadro 2) e um fluxograma de identificação e seleção dos artigos incluídos no estudo. As recomendações foram amplamente adotadas e as evidências de estudos observacionais demonstram que o uso da declaração PRISMA 2009 está associada a relatórios mais completos das RSs (Page *et al.* 2021).

O objetivo do PRISMA é aprimorar o relato de revisões sistemáticas e meta-análises, com foco inicial em ensaios clínicos randomizados, acurácia diagnóstica e estudos não-randomizados. No entanto, suas diretrizes também podem ser aplicadas a outros tipos de

pesquisa, especialmente avaliações de intervenções, como os estudos pré-clínicos. O PRISMA também pode ser útil na análise crítica de RS já publicadas, para a síntese da evidência dos estudos secundários a partir das *overviews*. Vale destacar que a ferramenta PRISMA não se destina a ser um instrumento de avaliação da qualidade das revisões sistemáticas, mas sim de relatório, e para isso é recomendado o uso do AMSTAR (Avaliação de Múltiplas Revisões Sistemáticas).

Quadro 2 - Itens do *checklist* a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise

Secção e Tópico	Item	Verificação do item	Local onde o item está
TÍTULO			
Título	1	Identifica a publicação como uma revisão sistemática.	
RESUMO			
Resumo	2	Ver a lista de verificação PRISMA 2020 para Resumos.	
INTRODUÇÃO			
Fundamentação	3	Fundamenta a revisão no contexto do conhecimento existente.	
Objetivos	4	Apresenta explicitamente o(s) objetivo(s) ou questão(ões) respeitantes à revisão.	
MÉTODOS			
Critérios de elegibilidade	5	Especifica os critérios de inclusão e exclusão para a revisão e forma como os estudos foram agrupados para as sínteses.	
Fontes de informação	6	Especifica todas as bases de dados, registos, websites, organizações, listas de referências e outras fontes pesquisadas ou consultadas para identificação dos estudos. Especifica a última data em que cada fonte foi pesquisada ou consultada.	
Estratégia de pesquisa	7	Apresenta as estratégias de pesquisa completas para todas as bases de dados, registos e websites, incluindo todos os filtros e limites utilizados.	
Processo de seleção	8	Especifica os métodos utilizados para decidir se um estudo satisfaz os critérios de inclusão da revisão, incluindo quantos revisores fizeram a triagem de cada registo e publicação selecionada, se trabalharam de uma forma independente e, se aplicável, os detalhes de ferramentas de automatização utilizadas no processo.	
Processo de recolha de dados	9	Especifica os métodos utilizados para recolha de dados das publicações, incluindo quantos revisores recolheram a informação de cada publicação, se trabalharam de uma forma independente, todos os processos de obtenção ou confirmação de dados por parte dos investigadores do estudo e, se aplicável, detalhes de ferramentas de automatização utilizadas.	
Dados dos itens	10a	Lista e define todos os resultados para os quais os dados foram pesquisados. Especifica se foram pesquisados todos os resultados compatíveis com cada domínio em cada estudo (p. ex. para todas as medidas, momentos, análises) e, se não, especifica os métodos utilizados para decidir quais resultados a recolher.	
	10b	Lista e define todas as outras variáveis para as quais os dados foram pesquisados (p. ex. características dos participantes e intervenções, fontes de financiamento). Descreve os pressupostos utilizados sobre informação em falta ou pouco clara.	
Avaliação do risco de viés nos estudos	11	Especifica os métodos utilizados para avaliar o risco de viés dos estudos incluídos, incluindo detalhes sobre o(s) instrumento(s) utilizado(s), quantos revisores avaliaram cada estudo e se trabalharam de forma independente e ainda, se aplicável, detalhes de ferramentas de automatização utilizadas no processo.	
Medidas de efeito	12	Especifica para cada resultado a(s) medida(s) de efeito (p. ex. risco relativo e diferença de média) utilizada(s) na síntese ou apresentação dos resultados.	
Método de síntese	13a	escreve os processos utilizados para decidir os estudos elegíveis para cada síntese (p. ex. apresentar as características da intervenção apresentada no estudo e comparar com os grupos planeados para cada síntese (item #5)).	
	13b	Descreve todos os métodos necessários de preparação de dados para apresentação ou síntese, tais como lidar com os dados em falta no resumo da estatística, ou conversões de dados.	
	13c	Descreve todos os métodos utilizados para apresentar ou exibir os resultados individuais de estudos e sínteses.	
	13d	Descreve todos os métodos utilizados para resumir os resultados e fornece uma justificação para a(s) escolha(s). Se foi realizada uma meta-análise, Descreve o(s) modelo(s) e método(s) para identificar a presença e extensão da heterogeneidade estatística, e de software utilizado(s).	
	13e	Descreve todos os métodos utilizados para explorar possíveis causas de heterogeneidade entre os resultados do estudo (p. ex. análise de subgrupos, meta-regressão).	

	13f	Descreve todas as análises de sensibilidade realizadas para avaliar a robustez da síntese dos resultados.	
Avaliação do viés reportado	14	Descreve todos os métodos utilizados para avaliar o risco de viés devido à falta de resultados numa síntese (decorrente de viés de informação).	
Avaliação do grau de confiança	15	Descreve todos os métodos utilizados para avaliar a certeza (ou confiança) no corpo de evidência de um resultado.	
RESULTADOS			
Seleção dos estudos	16a	Descreve os resultados do processo de pesquisa e seleção, desde o número de registos identificados na pesquisa até ao número de estudos incluídos na revisão, idealmente utilizando um fluxograma.	
	16b	Cita estudos que parecem satisfazer os critérios de inclusão, mas que foram excluídos, e explica as razões da exclusão.	
Secção e Tópico	Item	Verificação do item	Local onde o item está
Características dos estudos	17	Cita cada estudo incluído e apresenta as suas características.	
Risco de viés nos estudos	18	Apresenta a avaliação de risco de viés para cada estudo incluído.	
Resultados individuais dos estudos	19	Para todos os resultados de cada estudo, apresenta: (a) resumo da estatística para cada grupo (quando apropriado) e (b) uma estimativa do efeito e a sua precisão (p. ex. intervalo de confiança/credibilidade), utilizando idealmente tabelas ou gráficos estruturados.	
Resultados das sínteses	20a	Para cada síntese, resumo das características e risco de viés entre os estudos selecionados.	
	20b	Apresenta os resultados de todas as sínteses estatísticas realizadas. Se foi feita uma meta-análise, apresenta para cada resultado o resumo da estimativa e a sua precisão (p. ex. intervalo de confiança/credibilidade) e medidas de heterogeneidade estatística. Se forem comparados grupos, descreve a direção do efeito.	
	20c	Apresenta os resultados de todas as investigações de possíveis causas de heterogeneidade entre os resultados do estudo.	
	20d	Apresenta resultados de todas as análises de sensibilidade realizadas para avaliar a robustez dos resultados sintetizados.	
Vieses reportados	21	Apresenta a avaliação do risco de viés devido à falta de resultados (resultantes de viés de informação) para cada síntese avaliada.	
Nível de significância	22	Apresenta a avaliação de certeza (ou confiança) no corpo de evidência para cada resultado avaliado.	
DISCUSSÃO			
Discussão	23a	Fornecer uma interpretação geral dos resultados no contexto de outra evidência.	
	23b	Discute todas as limitações da evidência, incluídas na revisão.	
	23c	Discute todas as limitações dos processos de revisão utilizados.	
	23d	Discute as implicações dos resultados para a prática, política e investigação futura.	
OUTRAS INFORMAÇÕES			
Registo do protocolo	24a	Fornecer informação sobre o registo da revisão, incluindo o nome e número de registo, ou refere que a revisão não está registada.	
	24b	Indica local de acesso ao protocolo da revisão, ou refere que o protocolo não foi preparado.	
	24c	Descreve e explica todas as alterações à informação fornecida no registo ou no protocolo.	
Apoios	25	Descreve as fontes de financiamento ou apoio sem financiamento que suportam a revisão, e o papel dos financiadores ou patrocinadores da revisão.	
Conflito de interesses	26	Declara todos os conflitos de interesses dos autores da revisão.	
Disponibilidade dos dados, códigos e outros materiais	27	Reporta quais dos seguintes materiais estão acessíveis publicamente e onde podem ser encontrados: modelo de formulários de recolha de dados extraídos dos estudos incluídos, dados utilizados para análise; código analítico, ou qualquer outro material utilizado na revisão.	

Fonte: adaptado de Galvão; Pansani; Harrad (2015)

O AMSTAR é uma ferramenta de medição para avaliar a qualidade metodológica das RS também elaborado pelo grupo PRISMA (Galvão; Pansani; Harrad, 2015). A ferramenta foi publicada em 2007 (Shea *et al.*, 2017), e se trata de uma lista de itens criada a partir dos resultados de uma revisão de escopo dos instrumentos de classificação que estão disponíveis.

O instrumento revisado deveria servir como um recurso educacional e uma lista de verificação sucinta para orientar aqueles que realizam revisões (Quadro 3). Os itens tratam sobre o processo de seleção dos estudos, busca na literatura, análise de viés, dentre outras. A ferramenta foi atualizada para o AMSTAR 2, mantendo dez domínios do instrumento original, com alteração na relação dos itens com base no feedback sobre instrumento original e na experiência de testes de versões preliminares do novo instrumento (Shea *et al.*, 2017).

Quadro 3 - Ferramenta AMSTAR 2 (tradução livre para o português)

Itens da ferramenta AMSTAR 2
1. A pergunta de interesse e os critérios de inclusão compreendem os componentes do PICO?
2. A revisão contém uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da realização da revisão e há justificativa em caso de quaisquer desvios significativos do protocolo?
3. Os autores da revisão justificaram a escolha dos desenhos de estudo considerados para inclusão na revisão?
4. Os autores da revisão usaram uma estratégia abrangente de busca de literatura?
5. Os autores da revisão realizaram a seleção do estudo em duplicata?
6. Os autores da revisão realizaram a extração de dados em duplicata?
7. Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificam as exclusões?
8. Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos em detalhes e de modo adequado?
9. Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés dos estudos individuais que foram incluídos na revisão?
10. Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?
11. Se foi realizada metanálise, os autores da revisão usaram métodos apropriados para a combinação estatística de resultados?
12. Se foi realizada metanálise, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial do risco de viés dos estudos individuais sobre os resultados da metanálise ou de outra síntese de evidências?
13. Os autores da revisão consideraram risco de viés em estudos individuais ao interpretar / discutir os resultados da revisão?
14. Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e discussão sobre qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?
15. Se foi realizada metanálise, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?
16. Os autores da revisão relataram quaisquer fontes potenciais de conflito de interesses, incluindo algum financiamento recebido para realizar a revisão?

Fonte: Dourado, AS (2023)

No AMSTAR 2, foram feitas várias atualizações e adições em comparação com o instrumento original. Os principais ajustes incluem a cobertura mais detalhada de certos domínios, como seleção de estudos duplicados, extração de dados e consideração do financiamento (Shea *et al.*, 2017). Foram adicionados quatro novos domínios, incluindo elaboração do acrônimo da pergunta PICO (população, intervenção, comparação e resultado), aplicação do risco de viés durante a síntese de evidências e discussão da heterogeneidade. As questões do AMSTAR 2 são estruturadas e todos os itens devem ser avaliados de acordo com critérios pré-especificados da ferramenta. Sendo assim, trata-se de uma ferramenta importante

e desenvolvida exatamente para a finalidade de avaliar criticamente os estudos secundários publicados (Shea *et al.*, 2017).

Portanto, diante dos estudos de RS sobre eficácia de agentes anti-*Leishmania* em estudos pré-clínicos, torna-se importante a avaliação crítica da qualidade metodológica desses trabalhos para uma melhor confiabilidade nos resultados gerados pelas pesquisas, e assim, identificar as lacunas existentes nas experimentações em animais.

3 METODOLOGIA

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Esta overview de revisões sistemáticas atende às recomendações dos Itens de Relatórios Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA) (Page *et al.*, 2021) e recomendações Cochrane (Higgins *et al.*, 2024). O protocolo de pesquisa foi submetido na plataforma OSF (doi.org/10.17605/OSF.IO/42U7V). A questão da pesquisa foi elaborada de acordo com o acrônimo PICOS (População = camundongos infectados por *Leishmania*; Intervenção = Fármacos/agentes anti-*Leishmania*; Comparador = Animais infectados e tratados (com fármacos de referência, placebo); infectados e não tratados; não infectados e tratados; Desfechos primários = Efeito anti-*Leishmania* (tamanho da lesão, cicatrização da lesão, carga parasitária); Desfechos secundários = toxicidade e imunomodulação; Desenho do estudo = Revisões sistemáticas (com ou sem meta-análise) (Tabela 1). Pergunta: O que sabemos até agora sobre a eficácia dos novos agentes anti-*Leishmania* quando comparados a tratamentos de referência ou placebo em modelos murinos, bem como a confiança geral das revisões sistemáticas sobre esse tópico?

Tabela 1- Critérios de inclusão e exclusão de acordo com o acrônimo PICOS

PICOS	Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
<i>População</i>	Camundongos infectados com <i>Leishmania</i> (qualquer idade, sexo, qualquer espécie infectante causadora de LT)	Outros animais que não sejam camundongos murinos infectados com <i>Leishmania</i> ; humanos; células/protozoários. Outros roedores; animais infectados com espécies de LV (e.g. <i>L. donovani</i> , <i>L. infantum chagasi</i>)
<i>Intervenção</i>	Novos agentes anti- <i>Leishmania</i> : Fármacos/agentes anti-protozoários/medicamentos anti- <i>Leishmania</i> (qualquer intervenção, via de administração, dose, e combinações)	Imunobiológicos (vacinas, microrganismos, e outros)
<i>Comparador</i>	Grupos controles: Animais infectados e tratados (com fármacos de referência, placebo); infectados e não tratados; não infectados e tratados	Sem grupo controle.
<i>Resultado</i>	Desfecho primário: Efeito anti- <i>Leishmania</i> (tamanho da lesão, cicatrização da lesão, carga parasitária) Desfecho secundário: toxicidade e imunomodulação	Efeito em outros tripanossomatídeos, apenas resultados experimentais <i>in vitro</i> , outros efeitos não relacionados à eliminação do parasito (ex. atividade antioxidante)
<i>Tipo de estudo</i>	Revisões sistemáticas (com ou sem meta-análises)	Outros tipos de revisões, manuais, relatos ou série de casos, estudos observacionais; estudos não experimentais; ensaios clínicos
<i>Pergunta científica</i>	O que sabemos até agora sobre a eficácia dos novos agentes anti- <i>Leishmania</i> quando comparados a tratamentos de referência ou placebo em modelos murinos, bem como a confiança geral das revisões sistemáticas (SRs) sobre esse tópico?	

3.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA

A estratégia de busca foi elaborada considerando o acrônimo PICOS, e utilizou descritores, termos e operadores booleanos (Tabela 2). Inicialmente, foi realizada uma busca piloto no PubMed para verificar a sensibilidade da busca, baseando-se na recuperação de dez estudos de referência indicados pelo expert do assunto (IGD). A busca foi então adaptada para todas as bases de dados, e os artigos originais foram recuperados nas bases de dados: PubMed (National Library of Medicine), Web of Science (Web of Science Group Clarivate), EMBASE (Elsevier Limited), Scopus, LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e Google Scholar, publicados até 2023, não foi limitado período de publicação e idioma. A lista de referências dos artigos incluídos foram verificadas, assim como, foi consultado o expert em leishmanioses (IGD).

Tabela 2 - Estratégia de busca

Search	Pubmed (n=79)	Embase (n=75)	Web of Science (n=63)	Scopus (n=83)
Block 1 (<i>Leishmania</i>) AND	("Leishmaniasis" OR "Leishmania")	'leishmaniasis'/exp OR 'leishmaniasis' OR 'leishmania'/exp OR 'leishmania'	(TS=(LEISHM ANIASIS)) OR TS=(LEISHM ANIA)	(TITLE-ABS-KEY(leishmaniasis)) OR (TITLE-ABS-KEY(leishmania))
Block 2 (Intervention) AND	("Antiprotozoal Agents") OR ("Plants, Medicinal"[Mesh]) OR ("Oils, Volatile"[Mesh]) OR ("Biological Products"[Mesh]) OR ("Phytotherapy"[Mesh]) OR ("Leishmaniasis/drug therapy"[Mesh]) OR ("Leishmania/drug effects"[Mesh])	'Antiprotozoal Agent'/exp OR 'medicinal plant'/exp OR 'essential oil'/exp OR 'Biological Product'/exp OR 'Phytotherapy'/exp OR 'drug therapy'/exp OR 'drug effects'/exp	(TS=(Antiprotozoal Agent*)) OR TS=(medicinal plant*) OR TS=(Oils, Volatile)) OR TS=(Biological Product*) OR TS=(Phytotherapy) OR TS=(drug therapy) OR TS=(drug effects)	(TITLE-ABS-KEY ("Antiprotozoal Agents") OR TITLE-ABS-KEY (medicinal AND plant) OR TITLE-ABS-KEY (oils, AND volatile) OR TITLE-ABS-KEY (biological AND product) OR TITLE-ABS-KEY (phytotherapy) OR TITLE-ABS-KEY (drug AND effects) OR TITLE-ABS-KEY (drug AND therapy))
Block 3 Type of study	-	'systematic review'/exp OR 'meta analysis'/exp	systematic review or meta-analysis	TS("systematic review" or TS("meta-analysis"
Filter	systematic review meta-analysis	without Pubmed		

LILACS (n=0) LEISHMANIA OR LEISHMANIASIS [Words] and "ANTIPROTOZOAL AGENTS" OR "ANTILEISHMANIAL AGENTS" OR "drug effects" [Words] and systematic review (Publication Type). In portuguese, also any record was recovered. Google (100 FIRST: (LEISHMANIA OR LEISHMANIASIS) AND (ANTIPROTOZOAL AGENTS OR ANTILEISHMANIAL AGENTS OR drug effects) AND (systematic review) filetype:PDF (N=174).

3.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

As referências recuperadas foram gerenciadas no EndNote para remover as duplicatas. O Rayyan QCRI foi utilizado para a elegibilidade dos estudos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos conforme o acrônimo PICOS. Dois pesquisadores (GDL e TEPR) fizeram a leitura de forma independente e cegada dos títulos e resumos dos estudos e excluíram aqueles que não atendiam aos critérios de inclusão. Posteriormente, dois pares de pesquisadores independentes (GDL e TLL, TEPR e PGFO) leram o texto completo e excluíram os estudos que não se habilitaram aos critérios definidos. Os casos discordantes foram resolvidos pelo revisor especialista do tema (IGD). Foram incluídos estudos experimentais que testaram agentes anti-*Leishmania* com eficácia anti-*Leishmania* em modelos murinos, sem limite de tempo de publicação e de idioma e

foram excluídos os estudos *in vitro*, animais que não eram murinos, estudos não realizados com *Leishmania* e estudos que não eram revisão sistemática (Tabela 1).

3.4 EXTRAÇÃO DOS DADOS

Três pesquisadores (GDL, TEPR e PGFO) extraíram os dados de forma independente das revisões sistemáticas incluídas e somente os dados da experimentação *in vivo* com modelo murino foram analisados. Todos os estudos originais incluídos nas RSs selecionadas na overview foram exaustivamente explorados nesta revisão. Os estudos foram distribuídos aleatoriamente para os revisores especialistas para a validação desta etapa (IGD, IFK). Foram feitas as correções dos dados tabulados, e um consenso entre pares de revisores. Os dados extraídos foram os seguintes: link do artigo com o DOI; autor; número e link do registro do protocolo; ano de publicação; país em que foi realizada a revisão sistemática; forma clínica da leishmaniose; número de estudos incluídos na RS; se as questões de pesquisa e os critérios de inclusão incluíram a PICOS?; objetivo do estudo; número das principais bases de dados pesquisadas; nomes das principais bases de dados pesquisadas; nome da base de dados pesquisada como literatura cinzenta; intervalos de datas das bases de dados pesquisadas; data da última atualização da pesquisa. características dos animais (sexo, faixa etária, faixa de peso, espécie); infecção por *Leishmania* (espécie, local de inoculação, carga parasitária); tempo até o desenvolvimento da lesão/sinal (por exemplo, ~30 dias após a inoculação); tipo de intervenção; dose; esquema terapêutico; tipo de comparador; nome do resultado dos desfechos primários; medidas; estudos incluídos na metanálise; número de animais incluídos na metanálise; medidas de variabilidade (por exemplo, desvios padrão, erros padrão, intervalos interquartis, intervalo); nome do resultado dos desfechos secundários; efeitos adversos; conclusões; limitações da revisão sistemática; instrumento utilizado na avaliação da qualidade metodológica/risco de viés dos estudos; qualidade metodológica/risco de viés dos estudos incluídos nas revisões; domínios afetados; viés de publicação, GRADE; resultados do GRADE; financiamento e conflitos de interesse.

3.2 QUALIDADE DOS ESTUDOS DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Nesta *overview*, a qualidade metodológica das RS foi avaliada por dois pesquisadores (GDL e MAS) de forma independente. A discrepância foi resolvida pela expertise do tópico (IGD). A ferramenta AMSTAR 2 é composta por 16 questões que foram respondidas com “Sim” em casos do estudo atender ao critério, “Não” para casos em que não

há informações disponíveis ou quando o avaliador julgar que não pode optar pelo benefício da dúvida, ou “Parcialmente Sim” para adesão parcial ao domínio (Shea *et al.*, 2017). Um *score* da porcentagem de questões respondidas como “Sim” e “Parcialmente Sim” foi obtido para cada estudo, sendo que foi classificado como risco de viés baixo quando respondido de 75-100, moderado de 50 a <75%, e alto <50%. Os resultados da avaliação da qualidade metodológica foram apresentados de forma narrativa.

4 RESULTADOS

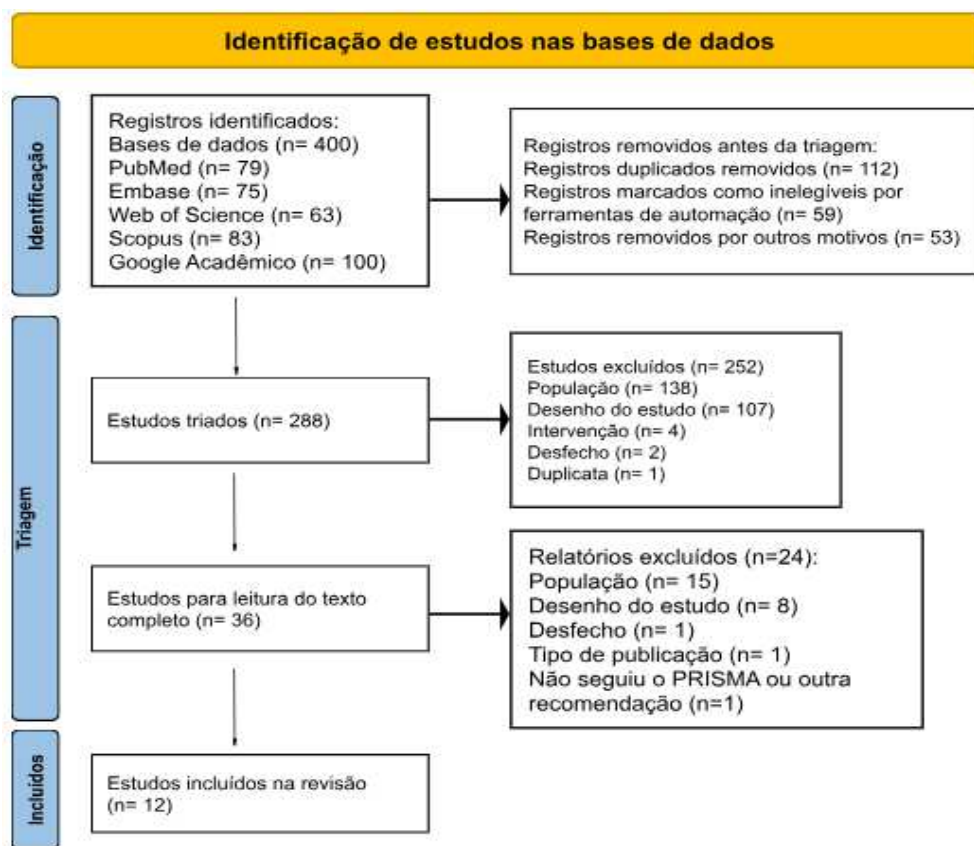
4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

Na estratégia de busca (Figura 8) foram recuperados 400 estudos, destes, 112 foram removidos automaticamente no programa EndNote por serem duplicatas, restando 288 artigos para leitura de título e resumo. Após esta triagem, na plataforma RAYYAN foram excluídos 252 estudos por não atenderem os critérios de elegibilidade, restando 36 revisões sistemáticas para a leitura completa do texto. Ao final, um total de 12 artigos de RS foram incluídos de acordo com o acrônimo PICOS, e 24 excluídos (Apêndice A). Houve apenas um estudo de meta-análise (Cabral *et al.*, 2021) (Apêndice B. Tabela de extração de dados completa disponível em Excel, link para acesso em Apêndices).

O Brasil foi o país com maior número de publicações, ao todo sete RS foram publicadas (Cabral *et al.*, 2021; Correa-Barbosa *et al.*, 2023; de Lara da Silva *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021; Ramos-Milaré *et al.*, 2022; Santana *et al.*, 2022; Sydor *et al.*, 2022). O Irã vem em seguida com a publicação de três RS (Albalawi *et al.*, 2021; Saberi *et al.*, 2020, Tajbakhsh *et al.*, 2021). A Arábia Saudita teve dois estudos publicados (Albalawi *et al.*, 2021; AlMohammed *et al.*, 2021). E por fim, em colaboração, Holanda e Equador publicaram um estudo (Bezemer *et al.*, 2021) (Tabela 3).

Todos os estudos de RS reportaram que a busca por artigos originais foi feita em pelo menos duas bases de dados principais (Tabela 3), PUBMED e WOS foram as mais utilizadas. Relacionado a literatura cinzenta, apenas seis RS fizeram a busca por artigos primários na base de dados do Google Scholar (AlMohammed *et al.*, 2021; Albalawi *et al.*, 2021; Bezemer *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2021; Saberi *et al.*, 2020 e Tajbakhsh *et al.* 2021), os demais estudos não relataram este tipo de busca. A maioria das revisões sistemáticas reuniram apenas estudos *in vivo*, mas algumas também investigaram a eficácia *in vitro* de alguns agentes. O número de estudos pré-clínicos incluídos nas RS variou de um a 22 estudos (Tabela 3).

Figura 8 - Identificação e registros dos estudos via base de dados



Todos os estudos tiveram o objetivo de realizar uma revisão sistemática para investigar a eficácia de agentes anti-*Leishmania* para LC em modelos pré-clínicos, verificando a evidência direta sobre o parasito (Tabela 3). Somente seis estudos de RS reportaram o protocolo de pesquisa (Albalawi *et al.*, 2021; AlMohammed *et al.*, 2021; Bezemer *et al.*, 2021; Cabral *et al.*, 2021; Correa-Barbosa *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2021). Da mesma forma, referente a pergunta PICOS, poucos estudos de RS responderam de maneira clara esta questão, apenas seis (Bezemer *et al.*, 2021; Cabral *et al.*, 2021; Correa-Barbosa *et al.*, 2023; de Lara da Silva *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021; Sydor *et al.*, 2022). Um único estudo de RS não reportou a pergunta PICOS e não foi possível identificar no texto (Tajbakhsh *et al.* 2021). Os demais estudos de RS responderam parcialmente este critério, pois relataram os critérios de inclusão, mas não foi possível identificar a questão de pesquisa e a estratégia de busca baseada na PICOS (Albalawi *et al.*, 2021; AlMohammed *et al.*, 2021; Ramos-Milaré *et al.*, 2022; Saberi *et al.*, 2020 e Santana *et al.*, 2022).

Tabela 3- Características dos estudos incluídos na revisão

Identificação do estudo	País	Nº total de estudos incluídos nas RS (nº de estudo (s) <i>in vivo</i> em modelo murino)	Objetivo do estudo	Principais base de dados
Albalawi <i>et al.</i> , 2021	Arábia Saudita e Irã	29 (1)	Revisar os efeitos anti- <i>Leishmania</i> da curcumina, seus derivados e outras formulações farmacêuticas relevantes na leishmaniose	PubMed, Web of Science, EBSCO, Science Direct, e Scopus
AlMohammed <i>et al.</i> , 2021	Arábia Saudita	25 (12)	Revisar os estudos pré-clínicos (<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>) sobre a atividade anti- <i>Leishmania</i> da quitosana e de partículas à base de quitosana contra <i>Leishmania</i> spp	PubMed, Web of Science, EBSCO, ScienceDirect, e Scopus
Bezemer <i>et al.</i> , 2021	Holanda e Equador	22 (2)	Avaliar a eficácia e segurança das alilaminas no tratamento da leishmaniose cutânea e mucocutânea	MEDLINE, EMBASE, The Cochrane Central Register of Controlled Trials, The Global Health Library e Web of Science
Cabral <i>et al.</i> , 2021	Brasil	8 (7)	Sintetizar as evidências dos estudos pré-clínicos com terapias baseadas em luz para LC	PubMed e Web of Science
Correa-Barbosa <i>et al.</i> , 2023	Brasil	44 (2)	Avaliar o potencial de espécies do gênero <i>Zanthoxylum</i> , para tratar doenças negligenciadas. Neste contexto, as plantas deste gênero podem ser promissoras devido às substâncias ativas em sua composição	PubMed, Virtual Health Library, Scopus, Science Direct, e Web of Science
de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020	Brasil	33 (8)	Investigar as evidências do potencial terapêutico dos óleos essenciais contra <i>L. amazonensis</i>	PubMed e Web of Science
Pereira <i>et al.</i> , 2021	Brasil	5 (todos)	Explorar as evidências do antimonioato de meglumina encapsulado para tratamento de leishmaniose cutânea em modelos animais	PubMed, Scopus, Embase, Lilacs e Web of Science
Ramos-Milaré <i>et al.</i> , 2022	Brasil	24 (20)	Avaliar a potencial atividade anti- <i>Leishmania</i> de compostos bioativos derivados de naftoquinonas em modelos animais.	PubMed, Web of Science, Embase, Scopus, e Lilacs
Saberi <i>et al.</i> , 2020	Irã	15 (1)	Apresentar uma visão geral das propriedades anti- <i>Leishmania</i> do CUR e seu mecanismo	PubMed, Science Direct, e Scopus
Santana <i>et al.</i> , 2022	Brasil	22 (todos)	Realizar uma revisão sistemática da literatura sobre opções de tratamento nanotecnológico para LC	PubMed e Web of Science
Sydor <i>et al.</i> , 2022	Brasil	22 (1)	Encontrar evidências do uso de plantas da família <i>Phytolaccaceae</i> em experimentos <i>in vitro</i> e estudos <i>in vivo</i> , contra agentes infecciosos capazes de causar doenças em humanos, através de uma revisão sistemática	PubMed, Web of Science, Scopus e Lilacs
Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021	Irã	73 (5)	Investigar os efeitos de ervas medicinais e produtos naturais marinhos na cicatrização de feridas de leishmaniose cutânea	PubMed, Science Direct, Web of Science e Scopus

4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS (ESPÉCIE, SEXO, FAIXA ETÁRIA E FAIXA DE PESO)

Todas as RS reportaram estudos primários que utilizaram o camundongo BALB/c como modelo murino. As RS de Bezemer *et al.* (2021), Cabral *et al.* (2021) e Santana *et al.* (2022), além do camundongo BALB/c também reportaram o uso do modelo murino C57BL/6 pelos estudos primários. Nos estudos originais da RS de Ramos-Milaré *et al.* (2022), foram incluídos estudos com camundongos: BALB/c, Swiss e CD-1 (Tabela 4).

O gênero dos camundongos utilizados foram reportados por quase todos os estudos originais incluídos nas RSs (Tabela 4). Somente Bezemer *et al.* (2021), Albalawi *et al.*, 2021 e Saberi *et al.* (2020) não reportaram o sexo dos animais. A maioria dos estudos primários utilizou ambos os sexos em seus experimentos. Com relação à idade dos modelos murinos, somente nos estudos de Bezemer *et al.* 2021, Correa-Barbosa *et al.* (2023), Albalawi *et al.* (2021) e Saberi *et al.* (2020) não há informação deste dado. Nas RS de AlMohammed e col. (2021), Pereira e col. (2021), Ramos-Milaré e col. (2022), Santana e col. (2022), Sydor e col. (2022) e Tajbakhsh e col. (2021) a idade dos animais variou de seis a oito semanas, e foi a faixa predominante nos ensaios dos artigos primários. Das características dos modelos murinos, as informações relativas ao peso dos camundongos foi a mais incompleta e diversificada, variando de 16 g a 30 g nos estudos que reportaram (AlMohammed *et al.*, 2021; de Lara da Silva *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021; Ramos-Milaré *et al.*, 2022; Santana *et al.*, 2022 e Tajbakhsh *et al.*, 2021) (Tabela 4).

Tabela 4 - Características dos modelos murinos

Identificação do estudo	Espécie	Gênero	Faixa etária	Faixa de peso
Albalawi <i>et al.</i> , 2021 e Saberi <i>et al.</i> , 2020	BALB/c	NR	NR	NR
AlMohammed <i>et al.</i> , 2021	BALB/c	Ambos	6-8 semanas	~ 20 g
Bezemer <i>et al.</i> , 2021	BALB/c	NR	NR	NR
	C57BL/6	Macho	NR	NR
Cabral <i>et al.</i> , 2021	BALB/c	Fêmea	35 - 56 dias	NR
	C57BL/6	Fêmea	70 dias	NR
Correa-Barbosa <i>et al.</i> , 2023	BALB/c	Ambos	NR	NR
de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020	BALB/c	Fêmea	6-8 semanas	20-30 g
		Macho	4 e 6 semanas	
		Ambos	8-12 semanas	

Pereira <i>et al.</i> , 2021	BALB/c	Fêmea e macho	6-8 semanas	20 g
Ramos-Milaré <i>et al.</i> , 2022	BALB/c Swiss CD-1	Fêmea, macho e ambos	6-8 semanas	20-25 g
Santana <i>et al.</i> , 2022	BALB/c C57BL/6	Fêmea e macho Fêmea	4, 4-6 e 6-8 semanas 10 semanas	16-30 g
Sydor <i>et al.</i> , 2022	BALB/c	Macho	6-8 semanas	NR
Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021	BALB/c	Fêmea, macho e ambos	4, 4-5, 4-6 e 6-8 semanas	18-40 g

4.3 CARACTERÍSTICA DO MODELO DE INFECÇÃO ANIMAL

Os modelos de infecção para leishmaniose apresentaram grande diversidade na quantidade de parasito inoculado, local e via de inoculação e início da intervenção (Tabela 5). Dez estudos utilizaram a carga parasitária de promastigota na escala de $\sim 10^6$ para a infecção dos animais, e a inoculação variou de 10^5 a 10^9 parasitos. Alguns estudos fizeram inoculação também com amastigotas, como relatado nas RSs de AlMohammed *et al.* (2021), Santana *et al.* (2022) e Tajbakhsh *et al.* (2021). Já os estudos originais avaliados na RS de Correa-Barbosa (2023) infectou somente com amastigotas na carga de 1×10^6 .

A base da cauda e a pata foram os locais de inoculação mais utilizados nos estudos nos estudos originais. Os estudos primários avaliados por Santana *et al.* (2022), além de utilizarem esses dois locais, também realizaram a inoculação na orelha dos camundongos. Por outro lado, os sete estudos incluídos na RS de Cabral *et al.* (2021) empregaram exclusivamente a orelha como local de inoculação do parasito. A principal via de inoculação relatada nos estudos primários foi a subcutânea, e nas RSs de Santana *et al.* (2022) e Tajbakhsh *et al.* (2021), os estudos originais também utilizaram a via intradérmica. O início da intervenção variou de um a 60 dias, e a maioria iniciou o tratamento após o aparecimento da lesão (Tabela 5).

As RSs reuniram estudos primários que utilizaram as espécies *L. amazonensis* (11 estudos) e *L. major* (sete estudos). Também foram relatadas as espécies *L. tropica* (Pereira *et al.*, 2021; Santana *et al.*, 2022), *L. venezuelensis* (Ramos-Milaré *et al.*, 2022), e *L. mexicana* (Santana *et al.*, 2022) (Tabela 5).

Tabela 5 - Características da infecção por *Leishmania* spp. e tratamento

Identificação do estudo	Espécie	Carga parasitária	Local/via de inoculação	Início da Intervenção
Albalawi <i>et al.</i> , 2021 e Saberi <i>et al.</i> 2020	<i>L. amazonensis</i>	3x10 ⁶ /50 µl/animal promastigota inoculado	subcutâneo na pata posterior	NR
AlMohammed <i>et al.</i> , 2021	<i>L. major</i> e <i>L. amazonensis</i>	10 ⁵ amastigotas, 2x10 ⁵ promastigotas metacíclicos, 1 - 5x10 ⁶ promastigotas de registro tardio ou estágio estacionário; 4x10 ⁷ de estágio estacionário	subcutâneo; base da cauda; pata	após 4 semanas; após 5-7 semanas; ~após 9-11 semanas
Bezemer <i>et al.</i> , 2021	<i>L. major</i> e <i>L. amazonensis</i>	10 ⁶ promastigotas	subcutâneo na base raspada da cauda	7 semanas p. i.
Cabral <i>et al.</i> , 2021	<i>L. major</i> e <i>L. amazonensis</i>	1x10 ⁶ promastigotas	orelha / NR	21 dias e 28 - 56 dias
Correa-Barbosa <i>et al.</i> , 2023	<i>L. amazonensis</i>	1x10 ⁶ amastigotas	pata / NR	1 semana e 5 semanas p. i.
de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020	<i>L. amazonensis</i>	5x10 ⁶ promastigotas em fase estacionária ou logarítmica, 1x10 ⁶ promastigotas; 1x10 ⁷ promastigotas metacíclicos	subcutâneo na pata posterior esquerda	4, 15 e 30 dias p. i e 4 semanas
Pereira <i>et al.</i> , 2021	<i>L. major</i> , <i>L. amazonensis</i> e <i>L. tropica</i>	3x10 ⁶ ; 2x10 ⁶ ; 4x10 ⁶ promastigotas	subcutâneo na base da cauda	4 semanas, 6 semanas
Ramos-Milaré <i>et al.</i> , 2022	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. venezuelensis</i> e <i>L. major</i>	2x10 ⁵ promastigotas até 1x10 ⁷ promastigotas	subcutâneo na base da cauda	10 dias (primeiro experimento), 23 dias (segundo experimento) e 3 dias (terceiro experimento), e 5-7 semanas
Santana <i>et al.</i> , 2022	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. major</i> , <i>L. tropica</i> e <i>L. mexicana</i>	10 ⁵ , 1x10 ⁶ , 1,6x10 ⁶ , 2x10 ⁶ e 5x10 ⁶ promastigotas, 1x10 ⁷ promastigotas metacíclicos, 10 ⁹ , 2x10 ⁶ , 4x10 ⁶ , 1x10 ⁷ promastigotas na fase estacionária de crescimento, 1x10 ⁶ amastigotas	subcutâneo acima, na base da cauda; subcutâneo na pata; orelha; intradérmico na pata traseira direita	3, 4, 5 e 6 semanas; 1, 2, 4, 7, 10, 14, 21, 28 30 e 60 dias; com tamanho entre 4-5 mm e a partir do surgimento de inchaço nas patas
Sydor <i>et al.</i> , 2022	<i>L. amazonensis</i>	10 ⁶ promastigota	subcutâneo na pata traseira	20 dias p. i.
Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021	<i>L. major</i>	4x10 ⁵ amastigotas; 10 ⁶ , 1,6x10 ⁶ e 2x10 ⁶ promastigotas	subcutâneo, subcutâneo no topo da base da cauda e intradérmicos na base da cauda	~3 semanas, 30 dias, 35 dias e NR

4.4 INTERVENÇÕES E PRINCIPAIS ACHADOS

Nos 12 estudos de RS incluídos na overview, sete avaliaram a eficácia de plantas e derivados, três sobre substâncias nanoparticuladas, um sobre combinação de substâncias e um de terapia fotodinâmica.

4.4.1 PLANTAS E DERIVADOS (N=7)

Das doze RS, sete avaliaram a eficácia de produtos naturais:

- derivados de *Zanthoxylum rhoifolium* (Correa-Barbosa *et al.*, 2023);
- óleos essenciais (OE) de plantas (de Lara da Silva *et al.*, 2020);
- derivados de naftoquinonas (Ramos-Milaré *et al.*, 2022);
- derivados de curcumina (Albalawi *et al.*, 2021; Saberi *et al.*, 2020);
- ácido ursólico e ácido oleanólico derivados de *Petiveria alliaceae* (Sydor *et al.*, 2022);
- extratos de plantas (Tajbakhsh *et al.*, 2021).

O estudo de Correa-Barbosa (2023) avaliou os artigos originais que verificaram o potencial de espécies do gênero *Zanthoxylum* no tratamento da leishmaniose. Nesses estudos, foram isoladas em sua forma básica os metabólitos secundários Avicina, Fagaridina e Queleritrina da casca da raiz de *Zanthoxylum rhoifolium* e da casca do caule de *Zanthoxylum chiloperone* os compostos Cantina-6-ona e 5-metoxicantina-6-ona. Os achados revelaram que os alcalóides fagaridina e queleritrina administrados de forma intralesional (~3 semanas de tratamento) foram capazes de reduzir a carga parasitária em 59,6% e 29%, respectivamente. Já o tratamento pela via oral com cantina-6-ona e 5-metoxicantina-6-ona (taxa de inibição da carga parasitária de 171,4% e 68,4%, respectivamente) foi mais eficaz do que pela via intralesional (77,6% e 21,6%, respectivamente) (Tabela 6).

A RS de de Lara da Silva *et al.* (2020) compilou estudos sobre as evidências do potencial terapêutico dos OE contra leishmaniose. Foram utilizados como intervenção OE de *Pluchea carolinensis* (intralesional), de *Chenopodium ambrosioides* (intralesional ou intraperitoneal), de *Tetradenia riparia* (tópico), de copaíba e de andiroba (subcutâneo, tópico e oral). Os produtos foram administrados diariamente ou em dias alternados, com duração geralmente de 15 a 30 dias. Os resultados mostraram que os OE foram capazes de reduzir o tamanho da lesão e que a via de administração é importante para melhorar a eficácia na diminuição da carga parasitária (Tabela 6).

Ramos-Milaré e colaboradores (2022) analisaram estudos envolvendo compostos bioativos derivados de naftoquinonas, abrangendo uma ampla variedade de substâncias aplicadas em diferentes concentrações e combinações (Tabela 6). Destacam-se no estudo: o

Lapachol, aplicado por via oral e diária por 14 dias ou mais, onde sua eficácia em reduzir a carga parasitária é semelhante ao medicamento de referência Anfotericina B; a Plumbagina na concentração de 1%, utilizada topicamente que suprimiu as lesões em 81% comparado ao grupo não tratado e o 8,8'-biplumbagina na concentração de 50 mg/kg aplicado topicamente foi tão potente em reduzir a infecção da pata quanto o Glucantime (400 mg/kg/d).

O estudo sobre a atividade leishmanicida da curcumina derivada de *Centrolobium sclerophyllum* foi reportado nos estudos de Albalawi *et al.*, 2021 e Saberi *et al.* (2020). Apenas um estudo (Araújo *et al.*, 1999) em modelo murino foi incluído em ambas as RSs. A curcumina metilada derivada com des-O-metilcentrolobina utilizada em dose única subcutânea foi capaz de reduzir o tamanho da lesão em animais tratados comparados aos controles e além disso, não apresentou toxicidade significativa.

Um estudo original com ácido ursólico (AU) de *Petiveria alliaceae* foi avaliado na RS de Sydor *et al.* (2022). O AU foi aplicado de forma intralesional quatro vezes, uma vez ao dia, em intervalos de 2 dias, e foi observada diminuição do parasitismo cutâneo nos grupos tratados com 1,0 e 2,0 mg/kg em relação ao controle infectado, representando uma diminuição do parasitismo de 91 e 98%, respectivamente. O Glucantime foi capaz de reduzir em 99,9% a carga parasitária. A eficácia de 2,0 mg/kg de AU na eliminação de parasitas durante o tratamento com camundongos foi semelhante à redução de parasitas alcançada com o Glucantime (Tabela 6).

Tajbakhsh *et al.* (2021) analisaram os estudos referentes aos extratos de *Arnebia euchroma*, de *Thymus vulgaris* (Tomilho), *Achillea millefolium* (Yarrow) e própolis, partes aéreas (caules, folhas e flores) de extratos concentrados de *Veronica persica* e de *Scrophularia striata* (tabela 6). Destes extratos, se destacam os extratos hidroalcoólicos de Tomilho, Yarrow e própolis aplicados de forma tópica (por em média 28 dias) reduziram significativamente o tamanho da lesão em comparação ao Glucantime, medicamento de referência para a leishmaniose. E também o extrato de *Scrophularia striata* que removeu a *L. major* e diminuiu o tamanho das lesões significativamente em relação ao início do tratamento realizado de forma tópica por 28 dias.

Tabela 6 - Tipo de intervenção e principais resultados plantas e derivados naturais

Identificação do estudo	Tipo de intervenção/dose	Esquema terapêutico	Conclusão
Albalawi <i>et al.</i> , 2021 e Saberi <i>et</i>	- Curcumina metilada derivada com	- apenas uma dose subcutânea no 45º dia	- redução do tamanho das lesões em animais tratados

<i>al.</i> , 2020	des-O-metilcentrolobina / 20 mg/kg		comparados aos controles
Correa-Barbosa <i>et al.</i> , 2023	- Avicina, fagaridina e queleritrina isoladas da casca da raiz de <i>Z. rhoifolium</i> / 5 mg/kg	- Injeções intralesionais 2x por semana durante 3 semanas	- A taxa de inibição da carga parasitária foi de 59,6% para fagaridina e 29% queleritrina. Avicina não foi relatada
	- 5-metoxicantina-6-ona e Cantina-6-ona isoladas da casca do caule de <i>Zanthoxylum chiloperone</i> var. <i>angustifolium</i> (ingl.) / 10 mg/kg	- 1x ao dia por via oral durante 15 dias, ou 4x por injeções intralesionais em intervalos de 5 dias na pata infectada	- O tratamento pela via oral mostrou-se mais eficaz em inibir a carga parasitária do que o tratamento por via intralisional
de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020	- OE de <i>Pluchea carolinensis</i> / 30 mg/kg	- 1x ao dia, a cada 4 dias. Total de 5 administrações intralisional	- O OE teve maior controle no tamanho da lesão das patas infectadas comparado aos camundongos não tratados
	- OE de <i>Chenopodium ambrosioides</i> / 15, 30, 60, 120 e 150 mg/kg	- Foram realizados diversos estudos. Um deles tratou por 15 dias com OE nas doses de 30, 60, 90, 120 and 150 mg/kg	- A dose de 150 mg/kg foi a mais efetiva e não foram observados efeitos tóxicos macroscópicos
	- Copaíba (óleo, emulsão, creme) / 100 mg/kg/day	- Tratamento feito pelas vias: subcutânea, oral e tópica	- Os tratamentos: oral e oral e tópico foram mais significativos em reduzir o tamanho da lesão
	- OE de <i>Tetradenia riparia</i> / 0,5% ou 1% com base	- Via tópica diariamente por 8 semanas	- O tratamento diminuiu significativamente a carga parasitária no baço
	- Nanoemulsões de óleos de copaíba e andiroba / 100–160 mg de óleo/kg de peso corporal	- Tratamento por via oral todos os dias, 1x ao dia por 8 semanas	- Os camundongos tratados com as nanoemulsões tiveram lesões menores do que os não tratados
Ramos-Milaré <i>et al.</i> , 2022	- Lapachol / 25 mg/kg	- via oral e diária por 10 dias	- Reduziu significativamente a carga parasitária em lesões cutâneas, semelhante à Anf B, medicamento de referência
	- Plumbagina / 16 mg/kg e 1% em 0.02 mL (tópico)	- 16 mg/kg: s.c. por 5 dias consecutivos; 1%: em 0,02 mL (tópico) por 15 dias consecutivos	- O tratamento subcutâneo suprimiu 24% das lesões na base do dorso. O tópico suprimiu as lesões em 81% comparado ao não tratado
	- LQB-118 / 15 µg/kg e 4.5 mg/kg	- 15 µg/kg: s.c. 5x por semana por 105 dias; 4,5 mg/kg: oral ou i.p. 5x por semana por 85 dias	- O tratamento s.c., i.p. e oral foram tão eficazes quanto o antimonial pentavalente na prevenção do surgimento de lesões
	- Bis-lawsones 3a / 30 µmol/kg/dia	- i.p. durante 28 dias	- diminuiu o tamanho da lesão na orelha infectada, mas não diminuiu a carga parasitária na orelha e no linfonodo de drenagem, semelhante ao tratamento com Glucantime na mesma dose
	- Plumbagina (2.5-7.5 mg/kg/dia), 3,3'-biplumbagina	- Todas as doses: s.c. diariamente por 14 dias ou	- Não foram tão eficazes quanto o Glucantime contra <i>L.</i>

(25 mg/kg/dia), 8,8'-biplumbagina (25 mg/kg/dia). Dose única: Plumbagina /10 mg/kg, 3,3'-biplumbagina e 8,8'-biplumbagina / 50 mg/kg	dose única tópica	<i>amazonensis</i> . No teste de dose única, 8,8'-biplumbagina foi tão potente quanto Glucantime
- LAP/LAW e MA: MA (0.23 mg of Sb 5+/Kg/dia, 2.27 mg of Sb5+ /Kg/dia e 22.7 mg of Sb5+ /Kg/dia). LAP (0.23 mg/kg/dia, 2.27 mg/kg/dia e 22.7 mg/kg/dia); e LAW (0.11 mg/kg/dia, 1.14 mg/kg/dia e 11.4 mg/kg/dia), Proporção da combinação LAP ouLAW e MA (3:1; 1:1 e 1:3)	- via subcutânea diária por 5 dias (4 doses/dia)	- O estudo mostrou um efeito aditivo do tratamento combinado entre oxiranos e MA (MA/LAP e MA/LAW) na redução da carga parasitária e no tamanho da lesão
- Derivado de hidroxiquinona 5 (XIC50): teste 1 (1.6 µg/mL/animal) e teste 2 (3.2 µg/mL/animal)	- teste 1: injetado s.c. com 5 na dose de XIC50 e teste 2: s.c. com 5 na dose	- Um efeito anti- <i>Leishmania</i> surgiu a partir da 5ª semana, onde observa-se um aumento no efeito do composto 5 em ambas as concentrações utilizadas, com diminuição do tamanho do coxim plantar
- Flau-A (10 mg/kg/bw) ou Flau-A/M (5 mg/kg bw)	- s.c. a cada 2 dias por 15 dias	- Os animais tratados com Flau-A ou Flau-A/M apresentaram as reduções mais significativas na carga parasitária e diâmetro da lesão comparados aos grupos controle
- LAW and MA: 2.7 mg of Sb(V)/Kg/dia, 2.27 mg of Sb(V)/Kg/dia e 0.23 mg of Sb(V)/Kg/dia (corresponde a 4.1 µM, 0.41 µM e 0.041 µM de Sb(V)) e 11.4 mg/Kg/dia, 1.14 mg/Kg/dia e 0.11 mg/Kg/dia (corresponde a 1.2 µM, 0.12 µM, e 0.012 µM) de composto de oxirano	- s.c. na região dorsal de cada camundongo na dose de 100 µL por animal. Os tratamentos foram realizados por 4 semanas com injeções diárias (cinco dias consecutivos com pausa de dois dias até 20 doses)	- O tratamento com LAW reduziu o tamanho da lesão em 27% para todas as doses administradas comparados ao grupo controle. A redução da lesão também foi detectada após tratar com MA, atingindo 31,0% (0,23 mg de Sb(V)/kg/dia e 2,27 mg de Sb(V)/kg/dia) e 64,0% (22,7 mg de Sb(V)/kg/dia)
- Plumbagina (5 mg/kg/dia), 3,3'-biplumbagina (25 mg/kg/dia), 8,8'-biplumbagina (25 mg/kg/dia)	- s.c. diariamente por 14 dias	- Os compostos foram menos potentes que Glucantime contra <i>L. venezuelensis</i> . Plumbagina e Glucantime atrasaram o desenvolvimento de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. venezuelensis</i>
- BPQ e 3-POM-BPQ: gel hidratado de BPQ; gel anidro de 3-POM-BPQ; BPQ s/emulsão e BPQ em miristato de isopropila (IPM): primeiro experimento 30-50 mg/kg; segundo experimento: 70-80 mg/kg [gel anidro de 3-POM-BPQ (0,70% p/p de BPQ e 4,95% p/p de 3-POM-BPQ); BPQ s/emulsão A (0,40% p/p); BPQ s/emulsão	- Primeiro experimento: tópico diário por 15 dias; Segundo experimento: tópico diário por 7 dias; terceiro experimento: tópico diário por 20 dias	- O gel hidratado e a emulsão de água em óleo de BPQ reduziram significativamente a carga parasitária cutânea e o tamanho da lesão em 22 dias após a infecção comparados ao controle não tratado, já o gel anidro reduziu em 16 dias após a infecção

	B (0,46% p/p); gel hidratado de BPQ (0,21% p/p) e gel hidratado de 3-POM-BPQ (0,11% p/p de BPQ e 0,24% de 3-POM-BPQ); terceiro experimento gel hidratado de PQ (0,05% p/p); Gel anidro 3-POM-BPQ (2,0% p/p BPQ e 5,0% p/p 3-POM-BPQ); BPQ s/emulsão A (0,5% p/p) e BPQ em IPM (0,5% p/p) - β-LP e β-LP NP: 20 mg/kg (100 μL contendo 5 mg/mL de β-LP)	- tópico e diário por 21 dias	- Aplicado topicamente o β -LP NP não teve redução do parasita, mas interrompeu a progressão da lesão
Sydor <i>et al.</i> , 2022	- Ácido ursólico (AU) de <i>Petiveria alliacea</i> / 2.0 a 1.0 mg/kg	- intralesional quatro vezes, uma vez ao dia, em intervalos de 2 dias cada	- diminuição do tamanho da lesão e menor parasitismo cutâneo em comparação ao controle infectado
Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021	- Tomilho, Henna Yarrow e Alho / NR - Extrato de <i>Arnebia euchroma</i> / 5% - Extratos hidroalcoólicos de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomilho), <i>Achillea millefolium</i> (Yarrow) e própolis / NR - Partes aéreas (caules, folhas e flores) de extratos concentrados de <i>Veronica persica</i> / 250 mg - Extrato de <i>Scrophularia striata</i> / 10% e 50%	- 4 soluções de extrato alcoólico 2x ao dia - O primeiro grupo foi tratado com solução de Arnebia 5% e o segundo grupo com gel de <i>Arnebia euchroma</i> 5%. Início do tratamento no dia em que as feridas foram observadas e realizado a cada 3 dias durante 21 dias - Extratos hidroalcoólicos e etanol puro foram aplicados 2x ao dia no local do nódulo com aplicador de algodão por um período de 6 semanas - Tratamento aplicando a pomada 2x ao dia no local durante 4 semanas - Grupos tratados com Extrato de <i>S. striata</i> 10% e 50% administrados localmente diariamente por um período de 28 dias	- Diferença significativa entre a média de lesão antes e depois do tratamento nos grupos controle, Yarrow e Tomilho - Não houve diferença significativa entre o grupo de camundongos que recebeu extrato de <i>Arnebia</i> daqueles que receberam gel. A cicatrização foi rápida, mas não estatisticamente significativa comparada ao controle - Os extratos hidroalcoólicos de Tomilho, Yarrow e própolis foram significativamente mais eficazes na redução do tamanho da úlcera em comparação com o Glucantime - As lesões aumentaram ao longo do tempo, entretanto, a taxa de crescimento foi menor nos grupos tratados com extrato vegetal e Glucantime, sendo mais rápida no grupo controle - O extrato removeu a <i>L. major</i>, diminuiu o tamanho das lesões significativamente em comparação com o tamanho das lesões antes do tratamento e inibiu o crescimento de amastigotas em macrófagos infectados após 4 semanas de tratamento

4.4.2 SUBSTÂNCIAS NANOPARTICULADAS (N = 3)

Três RSs fizeram a análise de estudos com substâncias nanoparticuladas:

- Quitosana e derivados (Al-Mohammed *et al.*, 2021);
- Antimoniato de meglumina (Pereira *et al.*, 2021);
- Diversas substâncias nanoparticuladas, como miltefosina, quitosana e outros (Santana *et al.*, 2022)

Al-Mohammed *et al.* (2021) analisaram diversos estudos primários sobre a quitosana (Tabela 7). Os resultados na redução do tamanho das lesões foram bastante significativos com as diversas formulações testadas. Entre esses se destacaram os mais relevantes, que demonstraram a capacidade de eliminar 100% dos parasitos ou de promover o fechamento completo das lesões causadas pela leishmaniose. O teste com nano quitosana, administrada intralesionalmente nas doses de 5, 7, 10 mg/kg durante 3 semanas, melhoraram a lesão e reduziram seu diâmetro para 0 mm, matando 81% dos amastigotas. Já a quitosana-ácido betulínico nano dimensionada aplicada por via intraperitoneal na dose de 20 mg/kg durante 28 dias também conseguiu reduzir completamente o tamanho da lesão em um dos grupos analisados.

Estudos primários de formulações contendo antimoniato de meglumina nanoencapsulada foram analisadas por Pereira *et al.* (2021) para avaliar o tratamento da leishmaniose cutânea em modelos animais. Todas as formulações demonstraram potencial em reduzir o tamanho da lesão como pode ser observado na Tabela 7, sendo aplicadas por via tópica ou subcutânea por um período de 4 a 5 semanas.

Vinte e dois estudos primários foram avaliados por Santana e col. (2022) sobre as opções de tratamento nanotecnológico para LC. As formulações foram bastante diversificadas, as quais merecem destaque: nanopartículas de prata mirra (MSNPs) aplicadas topicamente nas lesões 1x ao dia até cicatrização completa; nanoemulsão de resveratrol aplicadas topicamente por 28 dias e após o tratamento diminuiu o tamanho da lesão para 0,0 mm; nanopartículas de cobre verde (CuNPs) sintetizadas pelo extrato do fruto de *Capparis spinosa* combinado com meglumina (MA) aplicados topicamente uma vez ao dia durante 4 semanas e constatou-se recuperação completa (100%); o medicamento de referência, miltefosina (MTF), administrado diariamente por 3 semanas, também eliminou a lesão no grupo tratado; O gel tópico AmB-MTF co-carregado com lipossomas ultra deformáveis de 2ª geração (SGUDLs), administrado por via tópica 2 vezes ao dia por 4 semanas, resultou na

resolução completa da lesão e sem sinal de cicatriz no local da lesão e o gel SGNTs (nanotransferossomas de 2ª geração) co-carregado com MTF-APG (apigenina), aplicado topicamente 2 vezes ao dia por 4 semanas, também levou a resolução total da lesão causada pela leishmaniose.

Tabela 7- Tipo de intervenção e principais resultados: substâncias nanoparticuladas

Identificação do estudo	Tipo de intervenção/dose	Esquema terapêutico	Conclusão
Al-Mohammed <i>et al.</i> , 2021	- Nanopartículas de quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP), também combinados com AmB / 1.25, 2.5, 5 mg/kg	- intravenoso durante 10 dias	- reduziram 35% do tamanho da lesão e 65% da carga parasitária
	- Plaquetas de quitosana, também combinadas com Anfotericina B-desoxicolato (AmB-DOC) / 100 µL/kg	- intralesional durante 13 dias	- NR
	- Nano quitosana, e também mais AmB / 5, 7, 10 mg/kg	- intralesional durante 3 semanas	- melhorou a lesão e reduziu seu diâmetro para 0 mm e matou 81% dos amastigotas
	- Nanopartículas de poli(isobutilcianoacrilato) revestidas com quitosana (Cs-NPs), e também mais AmB-DOC/ 100 µL/kg	- tópico durante 13 dias	- leve melhora da lesão e redução da carga parasitária
	- Quitosana / 200, 400 µg/mL	- tópico durante 28 dias	- reduziu o tamanho da lesão de 10,7 mm no grupo controle para 1,05 mm
	- β-lapachona (βLP) em nanopartículas de lecitina-quitosana (NP) / 20 mg/kg	- tópico durante 21 dias	- reduziu o tamanho da lesão de 61,2 mm ² para 35,7 mm ²
	- Quitosana-ácido betulinico nanodimensionados / 20 mg/kg	- intraperitoneal durante 28 dias	- em um dos grupos analisados, o tamanho da lesão chegou a zero
	- Nano-scaffolds baseados em quitosana / 20 wt%	- tópico durante 28 dias	- reduziu significativamente o diâmetro da úlcera na pele e a carga parasitária
	- Sistema de entrega de nanopartículas para AmB (NQC-AmB), contendo moléculas de quitosana e sulfato de condroitina / 100 µL de 1 mg/kg	- intravenoso diariamente durante 10 dias	- reduziu significativamente o tamanho da lesão e a carga parasitária
Pereira <i>et al.</i> , 2021	- Lipossomas contendo HEPES e SA, MA e MA/SA / 10 a 40 µg/ml	- topicamente 2x ao dia por 4 semanas	- Os resultados revelaram que Lip-MA-SA 0,5% e Lip-MA-SA 1% são mais eficazes do que Lip-MA-SA 2% ou Lip-MA
	- Fosfatidilcolina e colesterol de soja / 124 mg/ml e 139 mg/mL	- subcutâneo 2x por semana durante 35 dias	- as formulações reduziram as contagens de amastigotas e o tamanho da lesão, mas as carregadas com MTF foram

			significativas
	- SPC de lipossomas e colesterol / 10 a 40 µg/ml	- topicamente 2x ao dia por 4 semanas	- Os grupos LMA e LMA-OA diminuíram o tamanho da úlcera em comparação aos grupos controle
	- TiO ₂ Ag / NR	- intralesional, diariamente por 4 semanas	- exibiram eficácia na cura de lesões cutâneas bem próxima da terapia com MA
	- NCP (nanocarreador coloidal polimérico) / 0.54 g Sb+5, 0.55 g Sb+5	- topicamente 1x por semana durante 5 semanas	- a terapia teve eficácia semelhante à da injeção intraperitoneal do medicamento de referência Glucantime ao reduzir a carga parasitária e de cura superior em termos de deposição da área de colágeno
Santana <i>et al.</i> , 2022	- Pentostam, nanopartículas de prata mirra (MSNPs) / 500 µL	- Pentostam foi injetado no membro posterior 1x ao dia, e MSNPs foram aplicados topicamente nas lesões 1x ao dia até que as lesões cicatrizassem	- As lesões cicatrizaram completamente em 21 dias após o tratamento com MSNP in vivo, enquanto o pentostam, um medicamento comercial, e as NPs mostraram um efeito moderado de cicatrização nas lesões
	- Solução de MTF e NPs carregados com MTF / 0,5 mg	- solução oral de MTF e NPs carregadas com MTF	- O tamanho da lesão no grupo tratado com NPs carregados com MTF foi reduzido significativamente após o tratamento em comparação ao início não tratado e tratada com MTF
	- DSHemsPC-AMB-Lip (1,2-Distigmasterylhemisuccinoyl-n-glycero-3-phosphocholine) / 5 mg/kg, AmBisome / 5 mg/kg e Fungizone / 1 mg/kg	- injeções intravenosas por um período de 4 semanas nos dias 1, 2, 4, 7, 14, 21 e 28 p. i.	- O efeito de DSHemsPC-AMB foi maior do que o de Fungizone. E a atividade de DSHemsPC-AMB-Lip foi melhor do que a de Fungizone e comparável à de AmBisome
	- resveratrol / 5, 10, 15, 20 e 40 mg/kg; peso corporal (PC) de RNE (nanoemulsão de resveratrol) / 5, 10 e 20 mg/kg e; Anfotericina / 1 mg/kg PC	- o tratamento tópico foi usado em cada camundongo por 28 dias contínuos	- o tamanho da lesão nos grupos tratados com 15 mg/kg de PC de resveratrol e 10 mg/kg de PC de RNE foi de 0,0 mm após 28 dias de intervenção
	- CuNPs (nanopartículas de cobre verde sintetizadas pelo extrato do fruto de <i>Capparis spinosa</i>) / 100 e 200 mg/kg e MA / 30 mg/kg	- topicamente para cada grupo testado uma vez ao dia durante 4 semanas	- o número médio de parasitas foi reduzido nos grupos tratados com CuNPs 100 e 200 mg/kg combinados com MA onde constatou-se recuperação completa (100%)
	- MTF / 20 mg/kg/dia, AmB-D (AmB-desoxicolato) / 2 mg/kg/dia, nanopartículas de BSA (albumina sérica bovina) contendo AmB / 6 mg/kg/dia	- os tratamentos foram administrados diariamente por 3 semanas	- o grupo tratado com MTF reduziu a lesão até ser completamente eliminada. O grupo tratado com AmB-D ou nanopartículas de BSA carregadas com AmB mostrou uma regressão significativa da espessura da lesão em comparação ao controle não tratado
	- TiO ₂ /Zn-HY / 0,5 ou 1,0 mg Kg ⁻¹	- tratados com TiO ₂ /Zn dopado com HY em 2 concentrações	- diminuiu em 58% a carga parasitária em camundongos infectados em uma dose de 1,0 mg Kg ⁻¹ , administrada em dias alternados

	diferentes, seguido de irradiação com Laser azul P30 470 nm, AlGaInP e Laser de luz vermelha P30 660 nm, AlGaInP simultaneamente em dias alternados por 30 dias	
- RVCT (rifampicina vancomicina co-carregado transfersome), gel RVCT e gel RVC / 6 mg/kg	- os animais foram tratados a cada 24 h por 21 dias	- o tamanho da lesão do grupo tratado com gel RVCT foi significativamente reduzido quando comparado ao tratamento feito por gel RVC e RCVT
- MA / 20 mg/kg/day, CF7, CF8 e CF9, (CF = formulações combinadas de TiAgNps e MA) / NR	- intralesional e nas almofadas plantares, todos os dias por 4 semanas	- A diminuição mais considerável foi no grupo tratado com terapia MA. CF9 demonstrou o efeito mais significativo. A redução no tamanho das lesões em animais que foram expostos ao CF9 foi semelhante ao tratamento padrão com Glucantime
- Gel AmB / 8 mg/kg/dia; gel AmB-UDLs (lipossomas ultra deformáveis) / 8 mg/kg/dia e SGUDLs co-carregados com AmB-MTF (lipossomas ultra deformáveis de 2ª geração) / 1,5 e 4,5 mg/kg/dia	- O gel tópico foi aplicado 2x ao dia por 4 semanas	- O gel tópico AmB-MTF co-carregado com SGUDLs 2x ao dia resultou na resolução completa da lesão e não houve sinal de cicatriz no local da lesão
- gel MTF / 20 mg/kg/dia, gel SGNTs (nanotransferossomas de 2ª geração) carregado com MTF puro / 20 mg/kg/dia e; gel SGNTs co-carregado com MTF-APG (apigenina) / 5 mg/kg/dia	- Foi aplicado 125 mm ³ 2x ao dia por 4 semanas	- A aplicação de gel tópico de SGNTs co-carregado com MTF-APG levou a resolução completa da lesão

4.4.3 COMBINAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS (N = 1) E TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD) (N = 1)

O estudo de Bezemer e colaboradores (2021) avaliou dois estudos primários que investigaram o uso de itraconazol e terbinafina, e também de estibogluconato de sódio para o tratamento da LC, ambos aplicados diariamente por via subcutânea por um período de 3 a 4 semanas. Os resultados demonstraram que as terapias são capazes de reduzir o tamanho das lesões nos grupos tratados quando comparados ao grupo não tratado (Tabela 8).

O uso de terapias baseadas em luz foi avaliado por Cabral *et al.* (2021) (Tabela 8). O esquema terapêutico foi diversificado, utilizando laser, LED, luz LC-122A, sessões tópicas, subcutâneas e intralesional. As formulações também foram bem variadas, assim como o número de sessões que foi de 1 a 10. Como resultado, observou-se nesses estudos que houve redução da carga parasitária por meio da terapia fotodinâmica.

Tabela 8 - Tipo de intervenção e principais resultados: combinações de substâncias e TFD

Identificação do estudo	Tipo de intervenção/dose	Esquema terapêutico	Conclusão
Bezemer <i>et al.</i> , 2021	- Itraconazol e terbinafina / 0,2 mg/dia	- subcutâneo, diariamente por 20 dias	- redução no tamanho da lesão do grupo tratado com itraconazol em relação ao não tratado
	- Estibogluconato de sódio (SSG) / 100 mg/kg/dia	- subcutâneo, diariamente por 4 semanas	- diminuição no tamanho da lesão no grupo tratado em comparação ao placebo
Cabral <i>et al.</i> , 2021	- Ftalocianina cloroalúminio lipossomal: lipossomal / 3.6 ± 0.9 µg/mL e gel-lipossomal / 5 µM	- ambas: laser, 10 sessões tópicas	- todos os estudos relataram uma redução na carga parasitária e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos controle não tratado e TFD. A TFD reduziu significativamente o tamanho da lesão
	- azul de metileno (MB) / 100 µM	- LED: 2 sessões subcutâneas	
	- brometo de 3,7-bis(N,N-dibutilamino) fenotiazínio (PPA904): creme / 2 mg/cm ² e solução / 500 µM e 10.7 µM	- luz LC-122A: creme: 1 sessão tópica; solução 500 µM: 1 e 3 sessões tópicas; solução 10,7 µM: 1 sessão intralesional	
	- protoporfirina IX (PpIX) (ALA): solução / 20%	- Laser: 1 sessão tópica	

Nos estudos originais analisados por Cabral *et al.* (2021) a densidade de potência variou de 30 a 100 mW/cm²; o tempo de exposição variou de 696 s a 1500 s; a exposição à radiação (J/cm²) variou de 21 a 150; e todos os estudos utilizaram comprimentos de onda na faixa entre 660 e 670 nm.

4.5 QUALIDADE METODOLÓGICA DAS RSs E ESTUDOS PRIMÁRIOS

Em relação à qualidade metodológica, sete RS realizaram a análise do risco de viés pelo SYRCLE (Quadro 4). Os domínios mais afetados foram de randomização, alocação dos animais nas gaiolas, ocultação e cegamento dos pesquisadores (Quadro 4). O cegamento para avaliação de resultados e a ocultação de alocação não foram adequadamente aplicadas, elevando o risco de viés nos achados. Além disso, a randomização do alojamento dos animais e a avaliação dos resultados não foram claramente descritas, o que compromete a confiabilidade das conclusões.

Quadro 4 - Vieses, limitações e outras características das RSs incluídas na *overview*

Referência	Ferramenta do risco de viés	Domínios afetados
Albalawi <i>et al.</i> , 2021	NR	NA
Al-Mohammed <i>et al.</i> ,	NR	NA

2021		
Bezemer <i>et al.</i> , 2021	SYRCLE	Ocultação da alocação; não cegamento da avaliação dos resultados e, portanto, deve ser interpretada com cautela.
Cabral <i>et al.</i> , 2021	SYRCLE	Ocultação de alocação, alojamento aleatório e cego, bem como avaliação aleatória de resultados não foram claros em todos os estudos, uma vez que os autores não abordaram essas questões. Nenhum estudo relatou qualquer indicação sobre o viés de desempenho e a avaliação aleatória de resultados.
Correa-Barbosa <i>et al.</i> , 2023	SYRCLE	Geração de sequência, Base de características, Ocultação de alocação, Alojamento aleatório, Resultados cegantes, Avaliação cega, Dados de resultados incompletos.
de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020	CONSORT e SYRCLE	Geração de sequência, Base de características, Ocultação de alocação, Alojamento aleatório, Resultados cegantes, Avaliação cega, Dados de resultados incompletos.
Pereira <i>et al.</i> , 2021	ARRIVE e SYRCLE	Procedimentos experimentais, randomização, ocultação de alocação, acomodação aleatória, tamanho da amostra, desfechos, dados de base, número de animais utilizados na pesquisa e interpretações.
Ramos-Milaré <i>et al.</i> , 2022	SYRCLE	Os itens de maior risco foram procedimentos experimentais, randomização, ocultação de alocação, acomodação aleatória, cegamento dos pesquisadores e tamanho da amostra, pois a maioria dos estudos não relatou suas limitações.
Saberi <i>et al.</i> , 2020	SYRCLE	Cálculo do tamanho da amostra, cegamento, temperatura do animal, conflito de interesses, randomização, pois a maioria dos estudos não relatou suas limitações. Viés de seleção, o domínio de ocultação de alocação. Viés de desempenho.
Santana <i>et al.</i> , 2022	NR	NA
Sydor <i>et al.</i> , 2022	SYRCLE	Sequência de alocação aleatória, um método estatístico de análise de resultados, resultados e estimativa para cada resultado primário e secundário. Outro ponto crítico foi a ausência total de citações em publicações nos quatro domínios da lista de verificação, confidencialidade de alocação, implementação, mascaramento, limitações e protocolo.
Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021	NR	NA

NR: não reportado; NA: não aplicado.

Todos os estudos reportaram o potencial conflito de interesse, a maioria recebeu algum tipo de financiamento, apenas quatro estudos não receberam qualquer tipo de auxílio (Al-Mohammed *et al.*, 2021; Cabral *et al.*, 2021; Tajbakhsh *et al.*, 2021).

Apenas um estudo (Pereira *et al.*, 2021) utilizou a recomendação GRADE para análise do nível das evidências, classificando o grau de confiança e a aplicabilidade dos achados. O estudo (Pereira *et al.*, 2021) considerou baixo o nível da eficácia do antimoníato de meglumina nanoparticulado, por encontrar algumas inconsistências como risco de viés grave, viés de publicação e outros.

A avaliação do risco de viés metodológico dos 12 estudos de RS incluídos neste trabalho foi realizada por meio da ferramenta AMSTAR 2 e pode ser vista na Tabela 9.

Tabela 9 - Resumo da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos utilizando a ferramenta AMSTAR 2

RS	AlMohammed <i>et al.</i> , 2021	Albalawi <i>et al.</i> , 2021	Bezemer <i>et al.</i> , <i>et al.</i>	Cabral <i>et al.</i> , 2021	Correa- Barbosa <i>et al.</i> ,	de Lara da Silva <i>et al.</i> , 2020
----	------------------------------------	-------------------------------	--	--------------------------------	------------------------------------	---------------------------------------

Questões	2021				2023	
1	N	S	S	S	S	PS
2	PS	PS	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	PS
4	S	S	S	PS	PS	S
5	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	N	N	N
7	N	N	N	N	N	PS
8	PS	PS	PS	S	PS	S
9	N	N	S	S	S	N
10	N	N	S	N	N	NM
11	NM	NM	NM	S	NM	NM
12	NM	NM	NM	S	NM	S
13	N	N	S	S	N	N
14	N	N	S	S	N	NM
15	NM	NM	NM	NM	NM	S
16	S	S	S	S	S	PS
Score (% S e PS)	54	62	92	80	62	77
Risco de viés*	M	M	B	B	M	B

Tabela 9 - Resumo da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos utilizando a ferramenta AMSTAR 2

RS	Pereira <i>et al.</i> , 2021	Ramos-Milare <i>et al.</i> , 2022	Saberi <i>et al.</i> , 2020	Santana <i>et al.</i> , 2022	Sydor <i>et al.</i> , 2022	Tajbakhsh <i>et al.</i> , 2021
Questões						
1	S	N	N	PS	S	N
2	S	PS	PS	N	PS	PS
3	S	S	S	N	S	S
4	S	PS	S	N	PS	S
5	S	S	S	S	S	S

6	S	S	N	N	S	S
7	N	N	N	N	N	S
8	S	S	S	NM	PS	PS
9	S	S	N	NM	S	N
10	N	N	N	N	S	N
11	NM	NM	NM	N	NM	NM
12	NM	NM	NM	NM	NM	NM
13	S	S	N	S	S	N
14	S	S	N	PS	S	N
15	NM	NM	NM	N	NM	NM
16	S	S	S	N	S	S
Score (% S e PS)	85	77	46	46	92	62
Risco de viés*	B	B	A	A	B	M

Q: questão; As respostas para cada questão foram= S: Sim; N: Não; PS: Parcialmente Sim; NM: Não meta-análise; *B, Baixo: 75-100%; M, Moderado: 50- <75%; A, Alto: <50%.

- 1- As questões da pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluíram os componentes PICO?
- 2 - O relatório da revisão contém uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da condução da revisão e o relatório justificou quaisquer desvios significativos do protocolo?
- 3 - Os autores da revisão explicaram sua seleção dos desenhos de estudo para inclusão na revisão?
- 4 - Os autores da revisão usaram uma estratégia abrangente de pesquisa de literatura?
- 5 - Os autores da revisão realizaram a seleção do estudo em duplicata?
- 6 - Os autores da revisão realizaram a extração de dados em duplicata?
- 7 - Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificaram as exclusões?
- 8 - Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos em detalhes adequados?
- 9 - Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) em estudos individuais que foram incluídos na revisão?
- 10 - Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?
- 11 - Se a meta-análise foi justificada, os autores da revisão usaram métodos apropriados para combinação estatística de resultados?
- 12 - Se a meta-análise foi realizada, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial da RoB em estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidências?
- 13 - Os autores da revisão consideraram RoB em estudos individuais ao interpretar/discutir os resultados da revisão?
- 14 - Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e uma discussão sobre qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?
- 15 - Se eles realizaram síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação (pequeno N, viés de estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?
- 16 - Os autores da revisão relataram quaisquer fontes potenciais de conflito de interesse, incluindo qualquer financiamento que receberam para conduzir a revisão?

Devido às discrepâncias nos métodos dos estudos primários, nesta *overview*, nós elaboramos uma lista de itens para verificação do relatório dos estudos pré-clínicos que avaliam a eficácia e segurança de substâncias para o tratamento da leishmaniose cutânea (Quadro 5).

Quadro 5 - Lista de itens de recomendações para estudos pré-clínicos que avaliam a eficácia e a segurança de substâncias para o tratamento da leishmaniose cutânea

Recommendations		Page number (e.g.)
Animal		
Lineage (source)	BALB/c mice are the most recommended. Give details on the source.	
Number (total) and for each tests	3-5 animals per group	
Sex	Female or male. To avoid both animals in the same experiment.	
Age	6-8 weeks	
Allocation animals		
- randomization	Yes (if yes and how)	
- concealed	Yes	
- house conditions	deitaled: food and water, temperature conditions and other.	
Selection of animals for intervention/control		
- randomization	Yes (If yes and how)	
- number for each group	declare number of animals for each group	
Leishmania		
- strain/species	Species names and strain [e.g. <i>Leishmania amazonensis</i> (strain MHOM/77BR/LTB0016)]	
- culture details	Promastigote (preferred) or amastigote, with culture details [mentioning growth stage (e.g. stationary phase or other), culture medium, temperature and passages]	
- density inoculation	1×10^6 - 1×10^8 parasites, detailing the volume (e.g. 20- 40 μ L) and vehicle used (e.g. PBS solution)	
- local of inoculation	Footpaw or tail base. Ear is not very recommended.	
- route of inoculation	Subcutaneous or intradermal	
Control		
- Groups	Safety (non treated animals; treated with vehicles). Efficacy (non treated animals, infected and non-treated, infected and drug reference-treated animals)	
- substance details (dose/time)	Recommended: Glucantime (e.g. 1 mg/Kg/day, daily) or amphotericin B/liposomal amphotericin B (e.g. 5 mg/kg/day, alternate days) until 15-30 days.	

- Route administration	Glucantime (intraperitoneal); Amphotericin B (intraperitoneal)	
Intervention		
- Groups	Safety: Treated and non-infected animals Efficacy: treated and infected animals	
- substance details (dose/time, route)	Declare dose, time of intervention, source of substances, route (oral, intralesional, intraperitoneal or other)	
time treating	Recommended ~15-30 days	
- time to start	Recommended: after inoculation or lesion presence (~30 days)	
Measures		
- Animals	Give the total number of animals included in the analysis of the results.	
- how measured?	To declare parameters analysis details: Safety (% animal mortality, toxicity using histological parameters, biochemical analysis) Efficacy [size lesion (cm,mm) using caliper or other (give details), mean and standard deviation. Load parasite: limiting dilution assays or microtitration; amastigote microscopic counting; PCR (e.g. DNA copies/mL). Wound healing (% , number)].	
- analysis concealed	Yes, it is recommended.	
Outcome		
- results	Expressed in tables (with details, measures) or graphs. Difference of mean/%/other between groups, with appropriate statistical analysis.	
time to evaluation	Size lesion (every week, since parasite inoculation day until end of treatment, * also it is recommended that follow-up continues after the end of treatment, during~ 15 days), load parasite (final of treatment), wound healing (all time).	
- concealed analysis	Yes. It is recommended.	
- incomplete data	Avoid 'data not shown'. All results must be declared in the manuscript.	
Other		
Conflict of interest	It is essential to declare.	
Funding	It is essential to declare.	

5 DISCUSSÃO

Esta *overview* reuniu RSs sobre agentes anti-*Leishmania* em modelos murinos com LC. Dentre as pesquisas, foi observado potencial de plantas e derivados naturais, assim como substâncias nanoparticuladas e em combinação. Trata-se da primeira *overview* nesse tema, e

este estudo foi realizado atendendo rigorosamente os critérios recomendados para este tipo de estudo. Também apresentamos as lacunas experimentais e sugerimos uma lista de itens a serem verificados para a padronização de estudos em modelos murinos com *Leishmania* causadoras de LC (Apêndice C).

Tendo em vista a importância da origem dos estudos, o Brasil foi o país que mais publicou estudos de RS sobre as leishmanioses, esse perfil ocorre principalmente por ser um país com alto índice da doença. Dados da OPAS e da OMS, mostram que dos 9 países do mundo com maior número de casos de LC, três estão nas Américas: Brasil, Colômbia e Peru, tendo sido registrados nos últimos 20 anos 52.645 casos anuais de LC e LM (OPAS e WHO, 2024). Na região das Américas a média dos casos se concentra na região Andina, 43% dos casos; no Brasil, 37%; na América Central, com 18%; e o restante no Cone Sul, Caribe não latino e México, sendo que 76% dos casos dos países endêmicos ocorrem no Brasil (OPAS, 2022). Os outros países foram Irã e Arábia Saudita. A OMS estima que cerca de 95% dos casos de LC ocorrem nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central (OMS, 2023). Nesse sentido, é coerente o alto número de publicações existentes no nosso país, visando o esforço em ampliar cada vez mais o conhecimento acerca da enfermidade, entender o seu perfil epidemiológico, ampliar e atualizar as opções de tratamento e fornecer subsídios para a gestão de saúde pública, auxiliando o governo na formulação de estratégias mais eficazes de combate à doença.

Em relação aos modelos murinos, as RS analisadas nesta overview, utilizaram camundongos BALB/C como população de seus estudos, e ainda outros três modelos murinos: C57BL/6 (Bezemer e cols. (2021), Cabral e cols. (2021) e Santana e cols. (2022)), e Swiss e CD-1 no estudo de Ramos-Milaré *et al.* (2022). Os camundongos são muito utilizados em estudos pré-clínicos de leishmaniose para melhor compreensão do ciclo de vida, do processo infeccioso e das relações parasito-hospedeiro da *Leishmania* (Pereira e Alves, 2008) e também para a descoberta de novas terapias menos tóxicas e mais eficazes. Estes modelos se destacam por possuírem linhagens consanguíneas que permitem selecionar as características interessantes do hospedeiro conforme o objetivo da pesquisa (Pereira e Alves, 2008). E devido aos camundongos de cada linhagem serem idênticos geneticamente, é possível coletar e combinar informações biológicas ao longo do tempo e do espaço, levando a uma caracterização do fenótipo que dificilmente é obtida em outros tipos de mamíferos (Loría-Cervera e Andrade-Narváez, 2014). As diferenças genéticas e as semelhanças entre essas linhagens são responsáveis pelas manifestações características da doença que cada uma

delas apresenta (Pereira e Alves, 2008). Outra vantagem do modelo murino consiste na facilidade de mantê-los, criá-los e também de reproduzi-los (Loría-Cervera e Andrade-Narváez, 2014).

Pesquisas realizadas com a linhagem de camundongo C57BL/6 infectados com *L. major* estabeleceram que a resistência a essa infecção é controlada pela genética do hospedeiro, onde ocorre a cicatrização espontânea após o desenvolvimento de uma lesão cutânea e os animais se tornam resistentes a uma nova exposição. Também são considerados camundongos resistentes à leishmaniose, os Swiss e CD-1. Por outro lado, camundongos BALB/C infectados com a mesma espécie de *Leishmania* desenvolvem a doença, que se torna sistêmica e leva à morte do murino em alguns dias. Evidenciou-se que a linhagem suscetível a infecção por *L. major*, camundongos BALB/C, desenvolve uma resposta imune por linfócitos Th2, favorecendo a produção de citocinas IL-4 e IL-5, que não eliminam a infecção. A linhagem resistente de camundongos, como C57BL/6, possuem uma resposta Th1 que desencadeia a produção de IL-12 e interferon-gamma e a consequente ativação dos macrófagos, que produzirão as substâncias microbidas (como óxido nítrico) que irão controlar a proliferação dos parasitos, levar a morte parasitária e controlar ou cessar o desenvolvimento da lesão pela *L. major* (Costa e Vale, 2014). Por isso é importante que os estudos originais reportem a linhagem utilizada, gênero, idade e ainda condições de alojamento, para melhor padronização dos modelos.

A maioria dos estudos primários incluídos nas RS reportaram o sexo dos animais. Outra variável importante na utilização de modelos murinos, pois essa decisão pode influenciar significativamente os resultados, influenciando diretamente na modulação da resposta imune em diferentes formas clínicas da doença. Snider *et al.* (2009) relata que os hormônios sexuais andrógenos, estrógenos e progestinas interagem diretamente com as células do sistema imune, como as dos macrófagos e dos linfócitos, e impactam nas suas respostas aumentando ou reduzindo sua ativação, podendo então o gênero afetar o curso da doença. A maioria das RS incluíram ambos os sexos em seus estudos, o que é crucial, já que um dos fatores da progressão da lesão está ligada ao sexo do camundongo.

Em relação ao modelo de infecção com *Leishmania*, diversas espécies, carga de inoculação, local e via de inoculação foram empregadas nos estudos primários, mostrando uma grande variabilidade de modelos e difícil padronização metodológica. Para um modelo de infecção com *L. amazonensis*, por exemplo, um estudo propôs que baixas doses (exemplo, 10 parasitas) de promastigotas metacíclicos inoculados na derme da orelha de camundongos BALB/C raramente causaria lesão, por outro lado, quase todos infectados com 100 parasitas

teriam lesão e com 1000 parasitas todos os animais têm lesões (Pereira e Alves, 2008). O local de inoculação e a via também tem função neste processo de gradação da doença. Ribeiro-Gomes e col. (2014) relataram que a via de inoculação subcutânea na pata ainda é preferível como via de infecção por *Leishmania*, por simular melhor a infecção com as dos seres humanos. Ainda, na natureza, os flebotomíneos são infectados com diferentes cargas parasitárias, pois a parasitemia depende do comportamento alimentar e da concentração de parasitas na lesão ou no sangue do qual se alimentam. Disto, uma pequena porcentagem da carga será transmitida pelo flebotomíneo (Omondi *et al.*, 2022). Características relacionadas a carga parasitária inoculada, local de inoculação e a cepa de *Leishmania* são então também fatores que definem a progressão da doença. Em relação ao início do tratamento, os estudos primários, na grande maioria, iniciou após o aparecimento da lesão, assim como ocorre em seres humanos, em que se diagnostica, principalmente, a partir da pesquisa de parasitos na lesão e depois é recomendado o tratamento.

Nesta revisão, foram recuperados diversos estudos promissores para o tratamento das leishmanioses. Dentre as terapias com potencial efeito anti-*Leishmania* in vivo, é a planta da espécie *Zanthoxylum rhoifolium* analisada na RS de Correa-Barbosa *et al.* (2023), a qual é tradicionalmente usada no tratamento e prevenção da malária (Melo *et al.*, 2016). Segundo estudos antiplasmodial já realizados, os compostos isolados da casca do caule de *Z. rhoifolium* apresentam atividade contra o plasmódio, variando de boa (nitidina, o composto mais ativo) a moderada (avicina e fagaridina) (Jullian *et al.*, 2006). No Brasil, *Z. rhoifolium* é usada popularmente para tratar inflamações, infecções microbianas, câncer e malária (Melo *et al.*, 2016). No tocante à leishmaniose, o estudo de Melo e cols. (2016) averiguou que o extrato etanólico de *Z. rhoifolium* apresenta um efeito inibitório efetivo da infecção de macrófagos por *L. amazonensis*. Esses estudos indicam o potencial leishmanicida de *Z. rhoifolium*, haja vista sua grande capacidade de ser utilizada no tratamento de infecções microbianas e doenças parasitárias (Melo *et al.*, 2016).

Os OEs estudados na RS de de Lara da Silva *et al.* (2020) mostraram ser eficazes na redução da carga parasitária e do volume da lesão em camundongos BALB/c infectados por *L. amazonensis*. Os OE são utilizados na medicina tradicional por muito tempo, prática esta que tem sido cada vez mais apoiada por evidências científicas devido a sua eficácia. Eles representam uma parte importante das farmacopeias tradicionais dos países mediterrâneos e tropicais e diversas atividades biológicas foram descritas para eles como: anti-inflamatórios, antioxidantes, antimicrobianos e antiprotozoários. E relacionado à atividade anti-*Leishmania*,

os OE demonstraram ser uma fonte interessante de moléculas ativas, principalmente para uso tópico, mas também oral e intralesional (Garcia *et al.*, 2023).

Outro estudo, com OE de Bixa orellana tanto *in vitro* como *in vivo*, demonstrou atividade contra a forma amastigota de *L. amazonensis* e a capacidade de controlar a progressão da doença em camundongos BALB/c (Oryan, 2015). Os OEs são ativos contra promastigotas e amastigotas axênicas de *L. amazonensis* como relatado no trabalho de Garcia e cols. (2023) e Oryan (2015). Por isso a importância de estudos pré-clínicos para avaliar sua eficácia e segurança *in vivo*, além de investigar seus mecanismos de ação e potenciais aplicações terapêuticas, como foi demonstrado no trabalho de Lara da Silva *et al.* (2020).

Segundo o estudo de RS sobre eficácia de naftoquinonas de Ramos-Milaré *et al.* (2022), as diferenças estruturais das naftoquinonas podem interferir na atividade anti-*Leishmania* ou mesmo em aplicações terapêuticas específicas. Deste modo, diversos compostos foram analisados neste trabalho, sendo os principais achados potenciais o lapachol, a Plumbagina e 8,8'-biplumbagina, que foram eficazes na redução da carga parasitária de animais infectados. O lapachol [2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona], que ocorre principalmente no gênero *Handroanthus* possui amplo espectro de atividades biológicas, como tripanocida, leishmanicida, antimalárica e antitumoral (Araújo *et al.*, 2019). Neste mesmo estudo, a análise de citotoxicidade usando células HepG2 foi baixa para o lapachol. A baixa citotoxicidade de lapachol em relação a HepG2 e outras linhagens celulares, como macrófagos murinos e células THP-1 modificadas, já foi relatada. *In vivo*, o lapachol foi administrado oralmente para avaliar o efeito da *L. amazonensis* em tecidos hospedeiros de modelos murinos, e o trabalho revelou que o tratamento reduziu significativamente a carga parasitária na pele dos camundongos em comparação ao grupo controle (grupo de tratamento negativo) (Araújo *et al.*, 2019).

Em geral, o mecanismo de ação das naftoquinonas com atividade leishmanicida envolve a geração de radicais livres de oxigênio que afetam o mecanismo de defesa do parasito e causam sua morte. Dentre as naftoquinonas com potencial leishmanicida, a Plumbagina apresentou resultados significativos nas experimentações pré-clínicas. Trata-se de um metabólito derivado de plantas das famílias *Plumbaginaceae*, *Ebenaceae* e *Droseraceae* e que experimentalmente demonstrou aumentar ROS, favoreceu a despolarização mitocondrial e interrompeu a homeostase do cálcio intracelular, levando à morte celular de formas promastigota e amastigota (Ortiz-Pérez *et al.*, 2021). Além disso, os compostos de naftoquinona podem ser facilmente sintetizados o que favorece a obtenção e exploração de outras moléculas com atividade farmacológica, e isso inclui o desenvolvimento de possíveis

candidatos a terapia contra a leishmaniose. Um estudo com dois compostos com estruturas semelhantes a 8,8'-biplumbagina, o 2,3-dicloro-5,8-di-hidroxi-1,4-naftoquinona e o 2,3-dibromo-1,4-naftoquinona foram avaliados contra promastigotas e amastigotas de *L. donovani* e comparados ao medicamento de primeira linha, estibogluconato de sódio (SSG). E como resultado os compostos mostraram melhor atividade leishmanicida contra parasitas intra e extracelulares do que SSG. Os autores sugerem que essa atividade antiparasitária está relacionada ao aumento da produção de NO, que se trata da principal substância leishmanicida (Ortiz-Pérez *et al.*, 2021).

Outra naftoquinona que apresentou resultados promissores, foi a buparvaquona (BPQ), uma hidroxinaftoquinona que possui características físico-químicas favoráveis para penetração na pele. Devido à sua alta lipofilicidade, BPQ pode permanecer associada às membranas celulares e não passar para as camadas aquosas ou mais profundas da pele, onde um maior teor de água está presente e o parasito reside. A terapia proposta com hidrogel nano-habilitado (1%) reduziu significativamente a carga parasitária após sete dias de administração diária e o tamanho da lesão em comparação com o controle não tratado. O momento para o início do tratamento influencia no resultado para tratamentos tópicos com BPQ. Estudos anteriores mostraram que um gel BPQ hidratado (0,2%) e uma emulsão de água em óleo (creme a 1%) reduziram significativamente a carga parasitária cutânea do Velho Mundo (*L. major*) após 20 doses diárias (22 dias após a infecção) e o tamanho da lesão, em comparação com o controle não tratado (16 dias após a infecção). A terapia tópica foi iniciada após três dias da infecção, e foi a mais eficaz na redução da progressão da lesão, quando comparado com o tratamento iniciado 10 ou 23 dias após a infecção (Lalatsa *et al.*, 2020).

Outra substância e derivados promissores, foi a curcumina, um polifenol isolado do rizoma da cúrcuma (*Curcuma longa*) que apresenta diversas atividades biológicas, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, apoptótica e antiproliferativa (Shirmohammad *et al.*, 2024). Nos estudo de Saberi e cols. (2020) e Albalawi *et al.* (2021), que utilizaram o mesmo artigo original sobre curcumina em suas RSs, ela foi capaz de reduzir o tamanho da lesão em animais tratados comparados aos controles, e ainda sem causar citotoxicidade. A atuação da curcumina modulou a produção de enzimas, como proteases e quinases, fatores de transcrição, proteínas apoptóticas e receptores de superfície celular. Essas modulações nas vias de sinalização da inflamação podem ser observadas a partir do aumento do estresse oxidativo e indução da apoptose. E ainda a curcumina demonstrou efeito

antiproliferativo sobre as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania major* em modelo *in vitro* (Shirmohammad *et al.*, 2024).

Um estudo com curcumina nanolipossomal mostrou atividade na redução da cinética do desenvolvimento de lesões por camundongos BALB/c infectados por *Leishmania* (Shirmohammad *et al.*, 2024). Um estudo *in vitro* realizado por Clemente *et al.* (2024) com *L. braziliensis*, demonstrou que a curcumina (CUR) inibe o crescimento da forma amastigota intracelular do parasita. Isso é corroborado pelo trabalho de Pereira *et al.* (2021) que observou o acúmulo de CUR em amastigotas internalizadas por macrófagos infectados com *L. braziliensis*. Esta descoberta é significativa, pois as próprias formas amastigotas, internalizadas pelos macrófagos, também podem ser um alvo direto das espécies reativas de oxigênio produzidas (Clemente *et al.*, 2024). Outro fator importante é que a CUR demonstrou alta atividade anti-*Leishmania*, consistente com os medicamentos já estabelecidos para o tratamento das leishmanioses (antimoniato de meglumina, anfotericina B e miltefosina), porém com baixíssima toxicidade, o que é vantajoso comparado aos tratamentos usuais (Clemente *et al.*, 2024).

O AU foi estudado na RS Sydor *et al.* (2022), foi eficaz na eliminação de parasitas durante o tratamento com camundongos de forma parecida à redução parasitária alcançada com o Glucantime. Este ácido provém de um metabólito secundário da planta, triterpeno, e constitui um dos grupos mais promissores de fitoquímicos devido à sua multifuncionalidade no tratamento de uma ampla gama de doenças (Bilbao-Ramos *et al.* 2020). Esses constituintes têm uma ampla gama de compostos farmacologicamente ativos e, para muitas regiões pobres, são as únicas fontes de medicamentos e, desta forma, as plantas têm sido amplamente utilizadas por populações tradicionais na América Latina para tratar leishmaniose (Yamamoto *et al.*, 2015).

O AU pode ser considerado um agente antiprotozoário, pois é ativo contra *Leishmania* sp., *Trypanosoma cruzi* e *Toxoplasma gondii*. Contra a leishmaniose, o AU demonstrou uma atividade ampla capaz de eliminar as formas promastigota e amastigota de *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. donovani*, *L. guyanensis* e *L. infantum*, apresentando atividade terapêutica na leishmaniose cutânea e visceral experimental (Jesus *et al.* 2021). Conforme o estudo de Jesus *et al.* (2020), os animais tratados apenas com AU apresentaram redução do parasitismo cutâneo em comparação ao controle infectado e aos animais tratados com Glucantime. No mesmo estudo, a terapia combinada de AU com Glucantime teve uma diminuição significativa no parasitismo da pele, em comparação ao controle infectado e aos animais tratados somente com o Glucantime na mesma dose utilizada. Deste modo, pode concluir-se

que o AU potencializa a ação deste fármaco no tratamento da leishmaniose cutânea, possivelmente devido a um efeito aditivo ou sinérgico obtido, já que houve um efeito terapêutico robusto em comparação à monoterapia. E ainda, a resposta imune Th1 é maior nos grupos tratados com terapia combinada em comparação à monoterapia, o que é um fator importante para reduzir eficientemente o parasitismo tecidual (Jesus *et al.*, 2020).

O trabalho de Tajbakhsh *et al.* (2021) analisou extratos de plantas, onde se destacam o extrato de *Scrophularia striata* que removeu a *L. major* reduzindo o tamanho das lesões significativamente, e os extratos hidroalcoólicos de Tomilho, Yarrow e própolis, que reduziram significativamente o tamanho da lesão em comparação ao Glucantime. *Scrophularia striata* pertencente à família *Scrophulariaceae* é encontrada em áreas de clima temperado. Muitas espécies têm sido usadas como ervas medicinais em países asiáticos para o tratamento de várias doenças inflamatórias, feridas, úlceras, dor abdominal e câncer, visto que esta planta tem propriedades antibacterianas, analgésicas, nefroprotetoras, supressoras de óxido nítrico e anticancerígenas (Zahiri *et al.*, 2016).

O estudo de Zahiri e cols. (2016) demonstrou que extrato de *S. striata* foi capaz de remover os macrófagos infectados por amastigotas de *L. major* significativamente após 24 horas e que depois de quatro semanas de tratamento, o extrato de *S. striata* diminuiu o tamanho das lesões significativamente em comparação com o tamanho das lesões antes do tratamento (Zahiri *et al.*, 2016). Já o estudo de Nokhodi *et al.* (2014) demonstrou a capacidade de cicatrização de *S. striata* em feridas causadas por *L. major* em camundongos BALB/c. *S. striata* promove o aumento do crescimento de fibroblastos e fornece a base para mais secreção de colágeno e, portanto, acelera a cicatrização de feridas (Nokhodi *et al.*, 2014).

Quanto aos extratos de Tomilho, Yarrow e própolis, estes são fonte de produtos naturais. Os produtos naturais oferecem uma fonte ilimitada de diversidade química para identificação de novos medicamentos. Em áreas endêmicas várias plantas tradicionais são comumente usadas para tratar doenças infecciosas (García *et al.*, 2010). Um estudo realizado por Namaei e cols. (2021) com extratos hidroalcoólicos de *P. farcta* mostrou atividade anti-*Leishmania* significativa destes contra promastigotas de *L. major* e uma redução da carga parasitária de amastigotas em macrófagos tratados com o extrato. Rebouças-Silva *et al.* (2023) demonstraram que o extrato de própolis verde brasileira EPP-AF ® e sua formulação em gel é capaz de controlar *in vitro* e *in vivo* a infecção por *L. amazonensis*. As reduções observadas na produção dos mediadores inflamatórios após o tratamento com EPP-AF ®, juntamente com o aumento da expressão da enzima antioxidante HO-1 e níveis aumentados

de TNF- α , que auxiliam no controle da carga parasitária, sugerem o potencial do extrato de própolis em orquestrar uma resposta imune inata eficaz e equilibrada no tratamento da LC (Rebouças-Silva *et al.*, 2023).

A quitosana (CH) utilizada nanoencapsulada, isolada ou combinada com outros medicamentos foi analisada na RS de Al-Mohammed *et al.* (2021) e teve resultados importantes, pois um estudo original mostrou a eficácia em curar a lesão causada pela infecção por *Leishmania* no modelo murino. A quitosana é um polímero natural (um copolímero de D-glicosamina e N -acetil-D-glicosamina) com propriedades farmacêuticas vantajosas devido às suas características como biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade e seus grupos amino que servem como plataforma para reações posteriores (Karam *et al.*, 2020). Essas propriedades também trazem bioatividade diversa que incluem ação antibacteriana, antiviral, antifúngica e antiparasitária. Além disso, a quitosana proporciona aceleração na cicatrização de feridas, sendo uma vantagem quando é aplicada topicamente, especialmente após o tratamento de LC, que deixa cicatrizes (Gürbüz *et al.*, 2022). Ainda o uso de nanocarreadores no tratamento da leishmaniose vem se intensificando nos últimos anos principalmente devido à eficiência e segurança aprimoradas para o tratamento com nanopartículas, que possibilita concentrar o medicamento em tecido específico, modificar o perfil de liberação do medicamento e aumentar a meia-vida dele, protegendo-o de condições ambientais e processos metabólicos. A CH se destaca como uma nanopartícula, pois é biocompatível e biodegradável e pode ser adaptada para liberação controlada, o que é importantes para a segurança dos medicamentos (Karam *et al.*, 2020; Gürbüz *et al.*, 2022; Riezk *et al.*, 2020).

A literatura mostra que nanopartículas de quitosana contendo anfotericina B contra *L. donovani*, *L. major*, *L. amazonensis* e *L. chagasi* apresentam atividade leishmanicida aumentada. Além disso, a atividade anti-*Leishmania* da CH ou derivados de CH isoladamente também já foi demonstrada contra *L. major* e *L. mexicana*, e isso é corroborado no trabalho de Gürbüz e cols. (2022). Nesse estudo, foram realizados testes *in vitro* com formulações de AmB lipossomal (L-AmB), quitosana + L-AmB e gel de quitosana sem L-AmB contra *L. tropica*. Como resultado, a L-AmB foi eficaz em todas as concentrações, enquanto os outros dois foram eficazes apenas em duas concentrações mais altas. E esta diferença se deve provavelmente pelo efeito de liberação mais lenta do L-AmB no gel de CH. Além disso, a eficácia da formulação de gel de quitosana vazia em concentrações mais altas obtida no estudo foi concordante com outras publicações relatando os efeitos antiparasitários e fúngicos da quitosana (Gürbüz *et al.* 2022).

Riezk *et al.* (2020) analisaram o efeito de nanopartícula de quitosana carregada positivamente com tripolifosfato de sódio (TPP) e com AMB. Como resultado, concluíram que as nanopartículas AMB-CH-TPP foram significativamente mais ativas do que o AmBisome[®] em camundongos BALB/c infectados por *L. major* quando administradas pela via intravenosa. As nanopartículas AMB-CH-TPP podem atingir especificamente as lesões de LC em maior extensão do que o AmBisome[®], resultando em uma maior concentração de AMB nos locais das lesões (Riezk *et al.*, 2020).

Os resultados de um estudo realizado por Zadeh *et al.* (2019) mostraram que os nanofármacos, Anfotericina B-quitosana e Ácido betulínico-quitosana, foram bem sucedidos em 100% para melhorar as lesões patológicas induzidas por *L. major* na almofada plantar infectada podendo ser considerados como alternativas adequadas de medicamentos de escolha para o tratamento da leishmaniose cutânea. O ácido betulínico (BA) é um composto pentacíclico triterpenóide com algumas propriedades biológicas, como a função leishmanicida. É obtido de vários tipos de plantas, como *P. andrieuxii*. As formulações contendo antimoniato de meglumina nanoencapsulada foram analisadas por Pereira *et al.* (2021). Os antimoniais são o padrão ouro no tratamento da leishmaniose, mesmo que sejam muito tóxicos. Em particular, o MA (Glucantime) é um composto de antimônio pentavalente utilizado no tratamento da LC. O mecanismo de ação inibe as atividades glicolítica e oxidativa de ácidos graxos do parasito que levam a diminuição da defesa antioxidante e do trifosfato de adenosina, que é a energia necessária para a sobrevivência do parasita. Infelizmente, o MA causa disfunção tubular renal, desregulação da função hepática, pancreatite e, possivelmente, arritmias cardíacas. Por isso, a nanoformulação polimérica capaz de reter eficientemente o MA para concentrar o composto em macrófagos evitando o aparecimento de efeitos colaterais é uma ótima possibilidade de uso para este medicamento (Cosco *et al.*, 2021). Um desses estudos avaliou a eficácia de formulações lipossomais de aplicação tópica contendo MA combinado com estearilamina (SA) em diferentes concentrações (0,5%, 1% e 2%), sendo que a SA, isoladamente, já apresenta atividade anti-*Leishmania*. Os resultados indicaram que a incorporação de 1% de SA à formulação lipossomal de MA aumentou significativamente sua eficácia na redução do crescimento das lesões (Téllez *et al.*, 2021). O estudo de Cosco e cols. (2021) demonstrou a capacidade dos sistemas coloidais de aprisionar eficientemente o MA e promover sua absorção dentro dos macrófagos e assim diminuir seu resultado celular negativo. A nanoencapsulação do MA favoreceu a diminuição do número de parasitas em relação à forma livre do fármaco (Cosco *et al.*, 2021).

A RS de Santana e col. (2022) analisou muitos estudos primários que tiveram a resolução completa da lesão, é o caso das nanopartículas de prata mirra, das nanoemulsão de resveratrol, das nanopartículas de cobre verde, do medicamento de referência miltefosina, do gel tópico AmB-MTF co-carregado com SGUDLs e do gel SGNTs co-carregado com MTF-APG.

Nanopartículas metálicas, como prata, ouro, óxido de zinco e óxido de ferro foram relatadas como tendo propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antitumorais; Além de eficácia contra helmintos, bactérias e fungos, essas NPs (nanopartículas) demonstraram ter atividades citotóxicas contra diferentes espécies de *Leishmania* em modelos *in vivo* e *in vitro* e facilitam a administração de medicamentos (Guerra *et al.*, 2022).

As nanopartículas de prata têm sido estudadas por seu efeito anti-*Leishmania*, devido à sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio, às quais o parasito apresenta alta afinidade. Além disso, a prata demonstrou uma atividade significativa sobre a tripanotona redutase, uma enzima essencial para a manutenção do equilíbrio redox do parasito (Shakeel *et al.*, 2023). Os autores sugerem que nanopartículas sintetizadas induzem peroxidação lipídica, além de provocar alterações no DNA, nas membranas celulares e em proteínas estruturais, contribuindo para a morte de *Leishmania*. Além disso, essas nanopartículas podem estar associadas aos elevados níveis de NO produzidos por macrófagos. Desta forma, o uso de MNPs apresenta vantagens no tratamento da leishmaniose, pois além de ter maior eficácia em comparação com os medicamentos tradicionais, como Glucantime®, paromomicina, anfotericina B, miltefosina e Pentostam, também é eficaz contra cepas de *Leishmania* resistentes a fármacos (Guerra *et al.*, 2022).

O resveratrol é um polifenol natural produzido por várias plantas, incluindo Kojo-kon (*Polygonum cuspidatum*), Kashuwu (*Polygonum multiflorum*), eucalipto (*Eucalyptus sideroxylon*) e uvas pretas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*). Ele tem muitas atividades biológicas como ação anti-inflamatória, anticâncer, antioxidante, antifúngica, antiviral, antibacteriana e anti- *Leishmania*, e ainda é bem tolerado em altas doses, sem efeitos colaterais (Ferreira, *et al.*, 2014). Na RS de Santana e col. (2022) o resveratrol livre e nanoencapsulado diminuiu o tamanho da lesão nos grupos tratados de camundongos para 0,0 mm. Um trabalho publicado por Kedzierski *et al.* (2007) demonstrou que o resveratrol *in vitro* teve atividade anti-*Leishmania* contra promastigotas e também contra amastigotas intracelulares conforme detectado em ensaio de macrófagos infectados com *L. major*. Outro estudo já realizado, Ferreira e cols. (2014), demonstraram que o resveratrol sozinho e em

associação com anfotericina B demonstrou *in vitro* efeitos antipromastigotas e antiamastigotas contra *L. amazonensis*. A associação do resveratrol com AMB mostrou sinergia para amastigotas de *L. amazonensis*. Então o resultado *in vivo* analisado na RS de Santana e col. (2022) é inovador e importante para o tratamento da leishmaniose cutânea.

A MTF também foi um medicamento que trouxe um bom resultado na RS de Santana e col. (2022), já que o grupo tratado com MTF reduziu a lesão até esta ser completamente eliminada. A MTF é um agente oral, de referência e já estabelecido no tratamento da leishmaniose cutânea aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos (Ware *et al.*, 2021). O estudo de Ware *et al.* (2021) mostra que a MTF tem ampla eficácia para uma variedade de espécies de *Leishmania* do Velho e do Novo Mundo de diversas regiões geográficas e que foi capaz de curar clinicamente os pacientes tratados. Ela é mais facilmente administrada, melhor tolerada e com eficácia comparável a outras terapias padrão, como por exemplo ao Pentostam, que é administrado por via intravenosa e está associado à cardiotoxicidade, mialgias, artralgias, aminotransferases elevadas e pancreatite química acentuada. Por isso, é um medicamento promissor para a terapia da leishmaniose cutânea como trazido na RS estudada.

A anfotericina B é reconhecida por seu efeito leishmanicida, porém esse fármaco tem efeitos colaterais, como a nefrotoxicidade. Com foco na redução da ocorrência desse evento adverso significativo, formulações lipídicas de AMB foram desenvolvidas, incluindo a forma lipossomal (L-Amb), uma apresentação baseada na incorporação de AMB em lipossomas, mas que ainda requer administração intravenosa. Uma abordagem para mitigar os efeitos indesejáveis da medicação envolve a modificação da via de administração para aplicação intralesional. Os benefícios da infiltração intralesional decorrem principalmente da utilização de menor quantidade de antimônio, resultando em uma redução notável em sua toxicidade associada (Alves *et al.*, 2024).

Outra maneira de minimizar a toxicidade de um agente terapêutico consiste nas formulações tópicas. Várias formulações de AMB foram investigadas para o tratamento de lesões tópicas como os emulgéis, formulação estável feita pela combinação de uma emulsão e um gel e que oferecem maior capacidade de carga de medicamentos para componentes hidrofílicos e hidrofóbicos em comparação com outras formulações tópicas e melhor espalhabilidade e penetração na pele, oferecendo assim uma melhor administração do medicamento para o tratamento da leishmaniose cutânea (Shakeel *et al.*, 2023).

Nesse sentido, o gel lipossomal co-carregado de AmB-MTF também resultou na resolução completa da lesão de acordo com a RS de Santana e col. (2022). Um ensaio clínico de fase II feito com pacientes do Sudão com leishmaniose dérmica pós-calazar (erupção cutânea que aparece meses ou anos após o tratamento bem-sucedido da leishmaniose visceral) realizado por Younis *et al.* 2023 demonstrou que MTF combinada com L-AmB consegue curar clinicamente as lesões cutâneas dos pacientes. Nesse estudo, a combinação L-AmB/MTF teve uma taxa de cura de 86% na análise de caso completo. Os autores sugerem que a combinação de L-AmB/MTF é uma boa alternativa, mas deve ser administrada em ambientes de maior complexidade, pois o potássio sérico e a função hepática precisam ser monitorados de perto. Outro estudo observacional na Índia mostrou que pacientes com lesões de PKDL predominantemente nodulares, papulares ou maculares, mostrou uma taxa de cura de 100% com a combinação L-AmB/MTF (Younis, *et al.*, 2023). Estudos estes que corroboram o potencial de cura do gel lipossomal de AmB-MTF trazido no estudo original analisado por Santana *et al.* (2022).

Bezemer *et al.* (2021) trouxeram os resultados do uso de itraconazol, terbinafina e estibogluconato de sódio para o tratamento da LC. Itraconazol e terbinafina mostram que as terapias são capazes de reduzir o tamanho das lesões nos grupos tratados. Isso se deve ao fato de que estes medicamentos atuam inibindo a biossíntese do ergosterol em *Leishmania*, componente este que confere integridade e fluidez das membranas de *Leishmania* spp. Assim, medicamentos como a terbinafina ou os análogos itraconazol (ITZ) e cetoconazol (CTZ), têm demonstrado potencial no tratamento da leishmaniose, pois comprometem a estrutura e a funcionalidade das membranas do parasito (Camizotti *et al.*, 2009).

O estudo de Andrade-Neto *et al.* (2021) mostrou que a atividade anti-*Leishmania* da combinação itraconazol-ezetimiba pode estar relacionada à inibição total de esterol. Outros estudos já demonstraram que combinações usando miltefosina e um azol já demonstraram ser eficazes, é o caso de do fluconazol com MTF que aumentaram a eficácia anti-*Leishmania* em comparação com medicamentos individuais. E ainda animais tratados com a combinação de cetoconazol e miltefosina mostraram mais eficácia em um modelo visceral do que aqueles tratados com cetoconazol e miltefosina separadamente (Andrade-Neto *et al.*, 2021).

Apesar do estudo primário da RS de Bezemer e cols. (2021) ter demonstrado a capacidade destes medicamentos em diminuir o tamanho da lesão, a literatura ainda é limitada em pesquisas sobre seu uso no tratamento das leishmanioses, uma vez que se trata de fármacos com ação fungicida. E como não houve evidências da eficácia da monoterapia, esses compostos surgem como alternativas promissoras no combate à infecção em terapias

combinadas com medicamentos triazólicos (Bezemer *et al.*, 2021; Camizotti *et al.*, 2009, Andrade-Neto *et al.*, 2021). Desta forma, ainda são necessários mais estudos *in vitro* e pré-clínicos para melhor compreender seu potencial terapêutico, como mencionado por Bezemer *et al.*, 2021. Os efeitos sinérgicos *in vitro* justificam maior investigação começando com estudos em animais de alta qualidade para definir doses e perfis de segurança ideais, seguidos por ensaios bem projetados em humanos em caso de resultados positivos.

O estibogluconato de sódio é um composto de antimônio pentavalente que apresentou eficácia no tratamento dos estudos analisados por Bezemer *et al.* (2021). Este composto, apesar de recomendado, necessita de injeção parenteral prolongada e é acompanhado de efeitos colaterais, como toxicidade e surgimento de resistência a medicação, o que tem limitado a utilidade deste medicamento (Roychoudhury, Sinha e Ali, 2011; Dar, Din e Khan, 2018). Diante dessas limitações, embora o estudo de RS de Bezemer *et al.* (2021) tenha relatado certa eficácia, terapias mais promissoras, com maiores taxas de cura, merecem maior atenção, compromisso e investimento por parte da comunidade científica.

Cabral *et al.* (2021) revisaram estudos sobre TFD e observaram sua eficácia na redução do tamanho das lesões. A TFD constitui uma alternativa promissora para tratar lesões localizadas e que já demonstrou grande potencial para uso como tratamento para leishmaniose cutânea sendo eficaz e não invasiva, com efeitos adversos muito pequenos (Sepúlveda *et al.*, 2020; Vital-Fujii e Baptista, 2021). Na RS de Ullah *et al.* (2024) foi observado que a TFD varia entre as espécies de *Leishmania*, sendo a luz do dia com resultados positivos para pacientes infectado com *L. major* enquanto que pacientes infectados com *L. tropica* foram resistentes a TFD.

A RS incluída no nosso trabalho, de Cabral *et al.* (2021) usou diferentes fotossensibilizadores para tratar a lesão, como ftalocianina cloroalumínio lipossomal, azul de metileno, e protoporfirina IX (PpIX) (ALA). Referente a estes fotossensibilizadores, a RS de Vital-Fujii e Baptista (2021) verificou que a *L. amazonensis* é sensível à radiação UV devido à presença de uroporfirinogênio I (URO), que é um subproduto do grupo heme dentro das células parasitárias que causa perda de motilidade em parasitas *Leishmania*. O primeiro passo na biossíntese do heme é a formação de ALA, que é o precursor universal de porfirinas. Essas descobertas mostraram o potencial das porfirinas como fotossensibilizadores na TFD contra *Leishmania*. Como visto, as porfirinas são ativas contra formas parasitárias, e um pró-fármaco como o ALA pode ser usado (Vital-Fujii e Baptista, 2021).

Ainda no trabalho de Vital-Fujii e Baptista (2021) foi verificado que quando as formas promastigotas de *L. amazonensis* são expostas ao cloreto de ftalocianina de alumínio e à luz, estas são rapidamente mortas, e as amastigotas axênicas sofrem alterações estruturais. E além disso, estudos envolvendo formulações lipossomais e a associação com fármacos existentes para a doença têm mostrado resultados satisfatórios tanto em termos de redução da carga parasitária e lesões cutâneas, quanto na redução da concentração usual e, assim, conseguindo uma possível melhora nos efeitos adversos (Vital-Fujii e Baptista, 2021). E por fim, Vital-Fujii e Baptista (2021) demonstraram que o azul de metileno possui bons resultados *in vitro* e *in vivo*, levando à diminuição da carga parasitária, redução de lesões tanto em animais quanto em humanos, bem como ação sobre diversas espécies de *Leishmania*.

Assim, a TFD aparece como uma opção terapêutica eficaz e segura para pacientes com lesões de LC (Ullah *et al.*, 2024), além de ser uma técnica de baixo custo, minimamente invasiva e com efeitos colaterais menores, como dor, eritema e sensação de queimação (Vital-Fujii e Baptista, 2021; Ullah *et al.*, 2024). Os fotossensibilizadores em combinação com tratamentos convencionais, como terapia com azul de metileno-TFD e antimonial pentavalente ou terapia com ftalocianina de cloroalumínio lipossomal-TFD e MTF, mostraram melhorar o processo de cicatrização de feridas (Sepúlveda *et al.*, 2020). Cabe destacar que os resultados do tratamento alcançado com a TFD provaram ser superiores ou equivalentes às práticas clínicas estabelecidas, exemplificadas pela eficácia dos antimoniais pentavalentes (Ullah *et al.*, 2024). Isso é de suma importância e coloca a TFD como uma modalidade promissora e eficaz no tratamento da LC e mostra que os resultados encontrados na literatura estão de acordo com os obtidos por Cabral *et al.* (2021).

No geral, as evidências reportadas sugerem que há um potencial significativo para o desenvolvimento de novas terapias anti-*Leishmania*, combinando compostos sintéticos e naturais, com foco em segurança e eficácia. Muito embora os estudos primários e secundários tenham apontado grande potencial dessas substâncias, ainda existem lacunas importantes a serem solucionadas relativas aos efeitos colaterais dos agentes terapêuticos, necessidade de estudos clínicos com as terapias promissoras, e melhoria na qualidade metodológica dos estudos.

Os estudos apresentaram grande heterogeneidade clínica, de intervenção, seguimento e mensuração dos desfechos, o que impossibilitou que quase todas as RS realizassem a síntese quantitativa de meta-análise. A maioria utilizou o SYRCLE para análise do viés dos estudos primários. E o uso da ferramenta SYRCLE na avaliação do risco de viés é considerado crucial para garantir a validade de revisões sistemáticas com animais, ao abordar pontos como

randomização, alocação oculta e cegamento dos avaliadores, que minimizam vieses e aprimoram a precisão dos resultados (Hooijmans *et al.*, 2014). A randomização dos animais e a ocultação de alocação reduzem o viés de seleção da amostra para os grupos de intervenção e controle, assim como diminui a heterogeneidade dos animais alocados. O cegamento dos pesquisadores, tanto na intervenção quanto na análise dos resultados, evita influências subjetivas na análise dos dados e qualquer desvio no processo de intervenção (Hooijmans *et al.*, 2014). Esses pontos críticos indicam limitações metodológicas que afetam a validade interna dos estudos analisados.

Relativo a recomendação GRADE para análise do nível das evidências, somente um estudo (Pereira *et al.*, 2021) fez esta análise, que é essencial para decisões baseadas em evidências de qualidade (Guyatt *et al.*, 2008). Destacamos que alguns estudos relataram perda da confiabilidade nos resultados dos estudos primários ao considerar os vieses e heterogeneidade.

Quanto ao AMSTAR, os resultados indicaram que a maioria dos estudos apresentou baixo risco de viés (Tabela 11), com as principais limitações identificadas nas questões 1 (As questões da pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluíram os componentes PICO?), 6 (Os autores da revisão realizaram a extração de dados em duplicata?), 7 (Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificaram as exclusões?), 9 (Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) em estudos individuais que foram incluídos na revisão?), 10 (Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?), 13 (Os autores da revisão consideraram RoB em estudos individuais ao interpretar/discutir os resultados da revisão?), 14 (Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e uma discussão sobre qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?) e também referentes a meta-análise 11 (Se a meta-análise foi justificada, os autores da revisão usaram métodos apropriados para combinação estatística de resultados?), 12 (Se a meta-análise foi realizada, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial da RoB em estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidências?) e 15 (Se eles realizaram síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação (pequeno N, viés de estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?).

Em nosso estudo, recuperamos artigos de cinco bases de dados principais e um da literatura cinzenta. A triagem exaustiva na literatura é crucial na forma como a RS é

conduzida, pois a investigação eficiente aumenta significativamente a probabilidade de se identificarem artigos relevantes para a pesquisa, garantindo a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos (Estudos de Revisão Sistemática, 2007). Por isso, também foi verificado se as revisões sistemáticas incluídas atendiam aos critérios do PRISMA. Neste trabalho, duas RS (Cabral *et al.*, 2021 e de Lara da Silva *et al.*, 2020), relataram terem buscado os artigos originais em duas bases de dados principais (PUBMED e WOS), os demais estudos fizeram a varredura em pelo menos quatro bases, sempre incluindo o PUBMED e o WOS e variando nas demais. Segundo Canto (2022), a estratégia de busca deve ser aplicada em pelo menos cinco bases principais, o que não aconteceu com todas as RS até aqui estudadas. E na área da saúde é importante que sejam PubMed, EMBASE, Scopus e WOS, o que foi feito nos estudos. No caso de RS realizadas no Brasil, pode-se incluir a LILACS que traz artigos em português e espanhol, uma vantagem adicional que pode ser aproveitada (Canto, 2022), porém, dos setes estudos realizados no Brasil, apenas três (Pereira *et al.*, 2021, Ramos-Milaré *et al.*, 2022, Sydor *et al.*, 2022), o fizeram.

A literatura não indexada em bases principais, as chamadas literaturas cinzentas, como o Google Scholar, é outro local importante para realizar buscas por artigos primários. Das 11 RS incluídas, somente seis estudos complementaram sua busca neste tipo de base, que foram as pesquisas de AlMohammed *et al.*, 2021; Albalawi *et al.*, 2021; Bezemer *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2021; Saberi *et al.*, 2020 e Tajbakhsh *et al.*, 2021. Este tipo de consulta objetiva que nenhum artigo seja perdido durante o processo de identificação (Canto, 2022) e ainda ajuda a reduzir o viés de publicação (Butler *et al.*, 2016), e por somente seis RS terem buscado a literatura cinzenta, é possível que alguns artigos possam ter ficado de fora das RS, porém não necessariamente irão comprometer a qualidade do estudo. A procura eficaz permite que se encontre artigos relevantes sobre o tema e em um tempo reduzido (Estudos de Revisão Sistemática, 2007). Pesquisar em bancos mais adequados é fundamental, pois a busca em bases inadequadas leva a resultados inapropriados, o que pode comprometer a qualidade e as descobertas gerais da revisão (Butler *et al.*, 2016). Evidenciamos que as RS tiveram preocupação em buscar os artigos originais em bases de dados de alta qualidade para garantir maior rigor e confiabilidade nos resultados obtidos.

Em relação aos protocolos das revisões sistemáticas, menos da metade das RS analisadas nesta overview relataram a existência do protocolo antes do início da pesquisa. Destacamos que o protocolo é parte imprescindível da RS, pois torna o processo transparente e garante a confiabilidade das descobertas. A publicação do registro do protocolo promove transparência, evita viés e duplicação de esforços (Canto, 2022). Para as decisões

metodológicas, é importante que a identificação de termos de busca até os processos de extração e síntese de dados, sejam cuidadosamente consideradas e justificadas (Butler *et al.*, 2016), ou seja, o protocolo serve como um guia para o trabalho dos pesquisadores (Canto, 2022). Além disso, relatórios claros são fundamentais para facilitar a identificação de discrepâncias entre o protocolo e a revisão, permitindo aos pesquisadores que avaliem possíveis divergências (Moher, *et al.*, 2015). Por isso, esse baixo registro de protocolos publicados nesta overview deve ser levado em conta e a interpretação dos resultados deve ser analisada com cautela (Moher *et al.*, 2015).

Dos trabalhos analisados, somente seis estudos foram claros com relação à sua pergunta PICOS, os demais estudos não deixaram claro sua questão de pesquisa no texto, sendo necessária leituras por pares independentes para a certeza da informação e pretensão da pesquisa. De acordo com Canto (2022), a pergunta de pesquisa deve ser interessante, capaz de ser respondida e inovadora, além de ser clara, focada e bem desenhada. A pergunta científica, segundo Butler (2016), é a base para o protocolo de revisão, para a formação da estratégia de busca, critérios de inclusão e extração de dados, portanto, é importante que ela seja bem descrita. Deste modo, a pergunta de pesquisa deve especificar a população, a intervenção, e o comparador, e quais os desfechos esperados (Canto, 2022). Nesse sentido, a pergunta PICOS auxilia bastante nesse processo, pois através dela é que os estudos relevantes para o trabalho serão incluídos e os que são inelegíveis para aquela pesquisa serão deixados de fora (Butler *et al.*, 2016). Diante do exposto, informações incompletas sobre a PICOS comprometem a análise do pesquisador quanto aos procedimentos realizados pelos autores das RS. A ausência de critérios PICOS bem definidos (questão 1), pode comprometer a reprodutibilidade e a clareza da pergunta da revisão, diminuindo a transparência metodológica (Canto, 2022). Além disso, a não realização da extração de dados pelo menos por dois revisores (questão 6) representa um risco metodológico significativo, pois ter mais de um revisor em cada estágio aumenta a confiabilidade das descobertas da revisão, removendo o viés pessoal do processo de revisão e minimizando o potencial de erro (Butler *et al.*, 2016). E ainda, a triagem ser realizada em duplicata em cada estágio da revisão, reduz a possibilidade de exclusão de relatórios relevantes, gerando um maior benefício para tópicos em que a seleção ou rejeição de um artigo exijam julgamentos difíceis (Shamseer *et al.*, 2016).

A não divulgação da lista dos estudos excluídos (questão 7) e a justificativa dessas exclusões podem comprometer a credibilidade da revisão levando a um possível viés de seleção, já que a omissão desses dados levanta a hipótese de que os estudos foram excluídos

de forma subjetiva ou arbitrária para favorecer determinados resultados. Segundo De Santis *et al.* (2023), este item é particularmente importante para a replicabilidade de RSs e detecção de vieses na seleção de estudos. Do mesmo modo, a falta de publicidade referente ao financiamento dos estudos (questão 10) pode resultar na inclusão de pesquisas com conflitos de interesse, por exemplo, viés em relação a resultados que favorecem produtos patrocinados por financiadores de estudos (de Santis *et al.*, 2023), afetando a imparcialidade da revisão, pois essas informações ajudam os leitores a avaliar se há interesses concorrentes ou influências potenciais presentes (Shamseer *et al.*, 2016).

Quanto ao risco de viés, o relato seletivo de estudos completos (como o viés de publicação) e o viés de relato de resultados dentro de estudos individuais, devem ser considerados pelos autores ao conduzir uma revisão sistemática e relatar seus resultados. A avaliação no nível dos resultados requer a análise da confiabilidade e validade dos dados para cada desfecho relevante, levando em conta os métodos utilizados para sua mensuração em cada estudo individual (Moher *et al.*, 2009). Assim, uma avaliação insatisfatória nos estudos individuais (questão 9) pode impactar na confiabilidade da síntese das evidências.

A meta-análise é um método quantitativo que combina estudos semelhantes para estimar efeitos médios, e é útil na tomada de decisões clínicas. E para que ela seja utilizada em um alto nível de evidência, a confiabilidade e a validade dos métodos e resultados da pesquisa devem ser garantidos. Portanto, para que os resultados da meta-análise sejam considerados, é essencial testar se a coleta de dados e a análise estatística são conduzidas adequadamente do ponto de vista metodológico (Kim, Choi e Jo, 2020). Somente o estudo de Cabral *et al.* (2021) fez meta-análise e por conta da heterogeneidade entre eles foi feita uma meta-análise de efeito aleatório para calcular a redução do tamanho da lesão e/ou da carga parasitária no local da infecção no final do tratamento. Apesar das limitações apontadas nas questões 11, 12 e 15 do AMSTAR para este estudo, a heterogeneidade metodológica, mesmo que tenha se refletido em alta heterogeneidade estatística, reduziu significativamente o tamanho da lesão (Cabral *et al.*, 2021). A falta de explicação sobre a heterogeneidade (questão 14) é especialmente crítica, pois a variabilidade nos estudos incluídos pode afetar a interpretação dos resultados.

Diante do exposto temos que o risco de viés é um fator crítico que deve ser considerado na avaliação da qualidade metodológica de estudos científicos, pois os vieses existentes podem levar ao comprometimento da validade e da confiabilidade dos desfechos. E nesse sentido, o uso de ferramentas, como a AMSTAR, permite uma análise mais rigorosa da qualidade das RSs, e auxilia a identificar onde estão os vieses para que se tenha maior

transparência e reprodutibilidade na pesquisa contribuindo para a tomada de decisões baseadas em ciência de alta qualidade. As recomendações relacionadas ao PRISMA encontram-se no Apêndice C.

Nesse contexto, é essencial que estudos pré-clínicos que avaliam a eficácia e a segurança de substâncias para o tratamento da leishmaniose cutânea sigam protocolos padronizados e bem descritos. A padronização metodológica favorece a reprodutibilidade dos experimentos e a comparação entre os resultados de diferentes estudos. Recomenda-se que esses estudos relatem de forma clara e completa informações como: espécie animal utilizada, idade, sexo, critérios de alocação e randomização, detalhes da intervenção (incluindo dose e tempo de início do tratamento), espécie e cepa de *Leishmania*, local e via de inoculação, existência e tipo de grupo controle, além dos desfechos obtidos relacionados à carga parasitária e ao processo de cicatrização. Tais práticas fortalecem a confiabilidade dos achados e promovem uma base mais sólida para futuras aplicações clínicas.

6 CONCLUSÃO

- Nesta revisão, as plantas e derivados, substâncias nanoparticuladas e combinação de fármacos mostraram-se promissores para o tratamento de LC nos estudos pré-clínicos, no entanto, foi observada uma grande heterogeneidade metodológica entre os estudos e lacunas importantes da experimentação animal.
- Dentre as diversas abordagens terapêuticas investigadas para o tratamento da leishmaniose cutânea, as formulações à base de nanopartículas se destacaram como as mais promissoras. Os estudos incluídos nesta overview evidenciaram que essas terapias não apenas promoveram a resolução completa das lesões cutâneas, como também resultaram em significativa redução da carga parasitária nos modelos experimentais. Destacam-se, por exemplo, as nanopartículas de prata mirra (MSNPs), a nanoemulsão de resveratrol e as nanopartículas de cobre verde (CuNPs) combinada com antimoniato de meglumina, que demonstraram alta eficácia e com cicatrização total das lesões após administração tópica.
- Além disso, as formulações lipossomais avançadas, como os SGUDLs co-carregado com AMB-MTF e os SGNTs co-carregado com miltefosina e apigenina, também apresentaram resultados expressivos, promovendo a resolução completa das lesões sem deixar sinais cicatriciais visíveis. Esses achados reforçam o potencial terapêutico das nanotecnologias aplicadas ao tratamento da leishmaniose cutânea, sinalizando um caminho promissor para o desenvolvimento de terapias mais eficazes, seguras e inovadoras. Embora a maioria dos estudos tenha apresentado baixo risco de viés, as limitações identificadas nos aspectos metodológicos sugerem a necessidade de maior rigor na condução e no relato das revisões sistemáticas para garantir maior confiabilidade e aplicabilidade dos achados na prática clínica e científica.
- Sugerimos que os estudos primários atentem-se às recomendações de experimentação animal declarando e atendendo ao máximo os critérios e apresentando os resultados de forma transparente e com maior confiabilidade, isso poderá facilitar a escolha de substâncias com potencial para ensaios clínicos com seres humanos.

7 REFERÊNCIAS

1. AKBARI, Maryam; ORYAN, Ahmad; HATAM, Gholamreza. Immunotherapy in treatment of leishmaniasis. *Immunology Letters*, [s. l.], v. 233, p. 80–86, 2021. doi: 10.1016/j.imlet.2021.03.011.
2. ALVES, LÍNDICY Leidicy *et al.* Local amphotericin B therapy for Cutaneous Leishmaniasis: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, [s. l.], v. 18, n. 4, p. e0012127, 2024. doi: 10.1371/journal.pntd.0012127.
3. ANDRADE-NETO, Valter V. *et al.* Effect of Itraconazole-Ezetimibe-Miltefosine Ternary Therapy in Murine Visceral Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, [s. l.], v. 65, n. 5, p. e02676-20, 2021. doi: 10.1128/AAC.02676-20.
4. ARAÚJO, Iasmin Aparecida Cunha *et al.* Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, [s. l.], v. 199, p. 67–73, 2019. doi: 10.1016/j.exppara.2019.02.013.
5. ARAUJO, Catarina Ac *et al.* Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against *Leishmania amazonensis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 791–794, 1999.
6. ASSOLINI, João Paulo *et al.* Nanomedicine in leishmaniasis: A promising tool for diagnosis, treatment and prevention of disease - An update overview. *European Journal of Pharmacology*, [s. l.], v. 923, p. 174934, 2022. doi: 10.1016/j.ejphar.2022.174934.
7. BASANO, Sergio De Almeida; CAMARGO, Luís Marcelo Aranha. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 328–337, 2004.
8. BERBERT, Taisa Rocha Navasconi *et al.* Pentavalent Antimonials Combined with Other Therapeutic Alternatives for the Treatment of Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review. *Dermatology Research and Practice*, [s. l.], v. 2018, p. 1–21, 2018. doi: 10.1155/2018/9014726.
9. BILBAO-RAMOS, Pablo *et al.* Evaluating the Potential of Ursolic Acid as Bioproduct for Cutaneous and Visceral Leishmaniasis. *Molecules*, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 1394, 2020. doi: 10.3390/molecules25061394.
10. BOGDAN, Christian *et al.* Experimental Cutaneous Leishmaniasis: Mouse Models for Resolution of Inflammation Versus Chronicity of Disease. In: CLOS, Joachim (org.).

- Leishmania*. New York, NY: Springer New York, 2019. v. 1971, p. 315–349. doi: 10.1007/978-1-4939-9210-2_18.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 191 p.
 12. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
 13. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
 14. BRASIL. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral, 2024.
 15. BRIONES NIEVA, C.A. *et al.* An appraisal of the scientific current situation and new perspectives in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Acta Tropica*, [s. l.], v. 221, p. 105988, 2021b. doi: 10.1016/j.actatropica.2021.105988.
 16. BUTLER, Ashleigh; HALL, Helen; COPNELL, Beverley. A Guide to Writing a Qualitative Systematic Review Protocol to Enhance Evidence-Based Practice in Nursing and Health Care. *Worldviews on Evidence-Based Nursing*, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 241–249, 2016. doi: 10.1111/wvn.12134.
 17. CAMIZOTTI, L. A.; YAMASHIRO-KANASHIRO, E. H.; COTRIM, Paulo C. Identification and chromosomal localization of one locus of *Leishmania* (L.) *major* related with resistance to itraconazole. *Parasitology Research*, [s. l.], v. 105, n. 2, p. 471–478, 2009. doi: 10.1007/s00436-009-1418-9.
 18. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. Visão geral clínica da leishmaniose. 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/leishmaniasis/hcp/clinical-overview/index.html>. Acesso em: 26 abr. 2024.
 19. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Leishmaniasis. CDC - DPDx, 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 29 ago. 2024.
 20. CLEMENTE, Camila M. *et al.* Piperine, quercetin, and curcumin identified as promising natural products for topical treatment of cutaneous leishmaniasis.

- Parasitology Research, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 185, 2024. doi: 10.1007/s00436-024-08199-w.
21. COSCO, Donato *et al.* Meglumine Antimoniate-Loaded Aqueous-Core PLA Nanocapsules: Old Drug, New Formulation against *Leishmania* Related Diseases. *Macromolecular Bioscience*, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 2100046, 2021. doi: 10.1002/mabi.202100046.
 22. COSTA, S. C. G.; VALLE, T. Z. Modelos experimentais na Leishmaniose Tegumentar Americana. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. (Orgs.). *Leishmanioses do continente americano [recurso eletrônico]*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. p. 293–307. ISBN 978-85-7541-568-9. doi: 10.7476/9788575415689.0018.
 23. DAR, M. Junaid; DIN, Fakhar Ud; KHAN, Gul Majid. Sodium stibogluconate loaded nano-deformable liposomes for topical treatment of leishmaniasis: macrophage as a target cell. *Drug Delivery*, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 1595–1606, 2018. doi: 10.1080/10717544.2018.1494222.
 24. CANTO, Graziela Luca. *Revisões sistemáticas da literatura: guia prático*. [S. l.]: Brazil Publishing, 2020.
 25. DEDET, J. P.; PRATLONG, F. Leishmaniasis. In: COOK, G. C.; ZUMLA, A. (ed.). *Manson's tropical diseases*. Londres: W.B. Saunders, 2003. p. 1339-1364.
 26. DE SANTIS, Karina Karolina *et al.* User experience of applying AMSTAR 2 to appraise systematic reviews of healthcare interventions: a commentary. *BMC Medical Research Methodology*, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 63, 2023. doi: 10.1186/s12874-023-01879-8.
 27. DE VRIES, Henry J. C.; SCHALLIG, Henk D. Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. *American Journal of Clinical Dermatology*, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 823–840, 2022. doi: 10.1007/s40257-022-00726-8.
 28. DIRETRIZES PARA O TRATAMENTO DAS LEISHMANIOSES NA REGIÃO DAS AMÉRICAS. SEGUNDA EDIÇÃO. [S. l.]: Pan American Health Organization, 2022.
 29. DOURADO, A. S. AMSTAR-2: avaliação de qualidade metodológica de revisões sistemáticas. *Estudantes para Melhores Evidências (EME) Cochrane*, 2023. Disponível em: <https://eme.cochrane.org/ferramenta-amstar-2/>. Acesso em: 24 abr. 2024.

30. DRUMOND, E. Leishmaniose permanece como doença infectocontagiosa de grande impacto. Fiocruz, 2022. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/leishmaniose-permanece-como-doenca-infectocontagiosa-de-grande-impacto>. Acesso em: 23 abr. 2024.
31. ESTUDOS de revisão sistemática. Revista Brasileira de Fisioterapia, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, jan./fev. 2007.
32. FERREIRA, Christian *et al.* Resveratrol Is Active against *Leishmania amazonensis*: In Vitro Effect of Its Association with Amphotericin B. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, [s. l.], v. 58, n. 10, p. 6197–6208, 2014. doi: 10.1128/AAC.00093-14.
33. GANDHI, Gopalsamy Rajiv *et al.* Anti-inflammatory natural products modulate interleukins and their related signaling markers in inflammatory bowel disease: A systematic review. Journal of Pharmaceutical Analysis, [s. l.], v. 13, n. 12, p. 1408–1428, 2023. doi: 10.1016/j.jpha.2023.09.012.
34. GARCÍA, Marley *et al.* Screening of medicinal plants against *Leishmania amazonensis*. Pharmaceutical Biology, [s. l.], v. 48, n. 9, p. 1053–1058, 2010. doi: 10.3109/13880200903485729.
35. GARCIA, Andreza R. *et al.* Antileishmanial Screening, Cytotoxicity, and Chemical Composition of Essential Oils: A Special Focus on Piper callosum Essential Oil. Chemistry & Biodiversity, [s. l.], v. 20, n. 2, p. e202200689, 2023. doi: 10.1002/cbdv.202200689.
36. GHORBANI, M.; FARHOUDI, R. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? Drug Design, Development and Therapy, [S. l.], v. 12, p. 25–40, 22 dez. 2017. doi: 10.2147/DDDT.S146521.
37. GUERRA, Rhanoica Oliveira *et al.* Metallic Nanoparticles: A New Frontier in the Fight Against Leishmaniasis. Current Medicinal Chemistry, [s. l.], v. 29, n. 26, p. 4547–4573, 2022. doi: 10.2174/0929867329666220225111052.
38. GÜRBÜZ ÇOLAK, Nergiz *et al.* The Designing of a Gel Formulation with Chitosan Polymer Using Liposomes as Nanocarriers of Amphotericin B for a Non-invasive Treatment Model of Cutaneous Leishmaniasis. Acta Parasitologica, [s. l.], v. 67, n. 3, p. 1354–1363, 2022. doi: 10.1007/s11686-022-00594-6.
39. GUYATT, Gordon H *et al.* GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. BMJ, [s. l.], v. 336, n. 7650, p. 924–926, 2008. doi: 10.1136/bmj.39489.470347.AD.

40. HANN, Byron; BALMAIN, Allan. Building ‘validated’ mouse models of human cancer. *Current Opinion in Cell Biology*, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 778–784, 2001. doi: 10.1016/s0955-0674(00)00283-0.
41. HIGGINS, J. P. T. *et al.* Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.5 (updated August 2024). 6. ed. [S. l.]: Cochrane, 2024.
42. HOOIJMANS, Carlijn R *et al.* SYRCLE’s risk of bias tool for animal studies. *BMC Medical Research Methodology*, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 43, 2014. doi: 10.1186/1471-2288-14-43.
43. JESUS, Jéssica Adriana *et al.* Ursolic Acid Potentializes Conventional Therapy in Experimental Leishmaniasis. *Pathogens*, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 855, 2020. doi: 10.3390/pathogens9100855.
44. JESUS, Jéssica Adriana *et al.* Preclinical Assessment of Ursolic Acid Loaded into Nanostructured Lipid Carriers in Experimental Visceral Leishmaniasis. *Pharmaceutics*, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 908, 2021. doi: 10.3390/pharmaceutics13060908.
45. JULLIAN, V. *et al.* Validation of use of a traditional antimalarial remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. *Journal of Ethnopharmacology*, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 348–352, 2006. doi: 10.1016/j.jep.2006.01.011.
46. KAMMONA, Olga; TSANAKTSIDOU, Evgenia. Nanotechnology-aided diagnosis, treatment and prevention of leishmaniasis. *International Journal of Pharmaceutics*, [s. l.], v. 605, p. 120761, 2021. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120761.
47. KARAM, Thaysa Ksiaskiewicz *et al.* Development of chitosan nanocapsules containing essential oil of *Matricaria chamomilla* L. for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s. l.], v. 162, p. 199–208, 2020. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.149.
48. KEDZIERSKI, Lukasz *et al.* In vitro antileishmanial activity of resveratrol and its hydroxylated analogues against *Leishmania major* promastigotes and amastigotes. *Parasitology Research*, [s. l.], v. 102, n. 1, p. 91–97, 2007. doi: 10.1007/s00436-007-0729-y.
49. KIM, Hye-Ryeon; CHOI, Chang-Hwan; JO, Eunhye. A Methodological Quality Assessment of Meta-Analysis Studies in Dance Therapy Using AMSTAR and AMSTAR 2. *Healthcare*, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 446, 2020. doi: 10.3390/healthcare8040446.

50. LALATSA, Aikaterini *et al.* Topical buparvaquone nano-enabled hydrogels for cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Pharmaceutics*, [s. l.], v. 588, p. 119734, 2020. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119734.
51. LOISEAU, Philippe M.; POMEL, Sébastien; CROFT, Simon L. Chitosan Contribution to Therapeutic and Vaccinal Approaches for the Control of Leishmaniasis. *Molecules*, [s. l.], v. 25, n. 18, p. 4123, 2020. doi: 10.3390/molecules25184123.
52. LORIA-CERVERA, Elsy Nalleli; ANDRADE-NARVAEZ, Fernando Jose. ANIMAL MODELS FOR THE STUDY OF LEISHMANIASIS IMMUNOLOGY. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 1–11, 2014. doi: 10.1590/S0036-46652014000100001.
53. MELBY, Peter C. *et al.* Regional Differences in the Cellular Immune Response to Experimental Cutaneous or Visceral Infection with *Leishmania donovani*. *Infection and Immunity*, [s. l.], v. 66, n. 1, p. 18–27, 1998. doi: 10.1128/iai.66.1.18-27.1998.
54. MELO NETO, Bernardo *et al.* Inhibitory effects of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (*Rutaceae*) against the infection and infectivity of macrophages by *Leishmania amazonensis*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, [s. l.], v. 88, n. 3 suppl, p. 1851–1861, 2016. doi: 10.1590/0001-3765201620150131.
55. MOHER, David *et al.* Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Medicine*, [s. l.], v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097.
56. NAMAEL, Mohammad Hasan *et al.* The Efficacy of Hydroalcoholic Extracts of *Prosopis farcta* Against *Leishmania major*. *Turkish Journal of Parasitology*, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 1–4, 2021. doi: 10.4274/tpd.galenos.2020.6956.
57. NOKHODI, F. *et al.* Medicinal Plant *Scrophularia striata* Evaluation Anti-parasitic Effects on *Leishmania major*: In vitro and In vivo Study. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 627–634, 2014. doi: 10.13005/bbra/1315.
58. NWEZE, Justus Amuche *et al.* Potentials of marine natural products against malaria, leishmaniasis, and trypanosomiasis parasites: a review of recent articles. *Infectious Diseases of Poverty*, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 9, 2021. doi: 10.1186/s40249-021-00796-6.
59. OMONDI, Zeph Nelson *et al.* Host–Parasite Interactions: Regulation of *Leishmania* Infection in Sand Fly. *Acta Parasitologica*, [s. l.], v. 67, n. 2, p. 606–618, 2022. doi: 10.1007/s11686-022-00519-3.

60. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS. Leishmaniose. 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 14 abr. 2023.
61. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS/WHO. Leishmaniose. 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose#:~:text=No%20per%C3%ADodo%20de%202001%20a,de%2052.645%20casos%20por%20ano>. Acesso em: 23 abr. 2024.
62. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS/WHO. Leishmaniose cutânea e mucosa. 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-cutanea-e-mucosa>. Acesso em: 14 abr. 2023.
63. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS/WHO. Leishmaniose visceral. 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-visceral>. Acesso em: 03 maio 2024.
64. OROSCO, Dayanna; MENDOZA, Arturo René; MELÉNDEZ, Carlos Mario. Exploring the Potential of Natural Products as Antiparasitic Agents for Neglected Tropical Diseases. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 89–108, 2024. doi: 10.2174/0115680266256963230921061925.
65. ORTIZ-PÉREZ, Eyra *et al.* Natural and Synthetic Naphthoquinones as Potential Anti-Infective Agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, [s. l.], v. 21, n. 22, p. 2046–2069, 2021. doi: 10.2174/1568026621666210915121348.
66. ORYAN, A. Plant-derived compounds in treatment of leishmaniasis. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Isfahan, v. 16, n. 1, p. 1–19, 2015.
67. PAGE, Matthew J *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, [s. l.], p. n71, 2021. doi: 10.1136/bmj.n71.
68. PANTALEÃO, C.; LUCHS, A. Câncer e modelos experimentais de tumores murinos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, [S. l.], v. 69, n. 4, p. 439–445, 2010. doi: 10.53393/rial.2010.v69.32599.
69. PELISSARI, Daniele Maria *et al.* Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v. 20, n. 1, p. 107-110, mar. 2011. doi: 10.5123/S1679-49742011000100012.

70. PEREIRA, Bernardo Acácio Santini; ALVES, Carlos Roberto. Immunological characteristics of experimental murine infection with *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Veterinary Parasitology*, [s. l.], v. 158, n. 4, p. 239–255, 2008. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.09.015.
71. PRADHAN, S. *et al.* Treatment options for leishmaniasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 516–521, 2022. doi: 10.1111/ced.14919.
72. PRISMA. Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises: a recomendação PRISMA. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, Brasília, v. 24, n. 2, p. 335–342, jun. 2015.
73. PRISMA-P GROUP *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1, 2015. doi: 10.1186/2046-4053-4-1
74. ROYCHOUDHURY, Jayeeta; SINHA, Roma; ALI, Nahid. Therapy with Sodium Stibogluconate in Stearylamine-Bearing Liposomes Confers Cure against SSG-Resistant *Leishmania donovani* in BALB/c Mice. *PLoS ONE*, [s. l.], v. 6, n. 3, p. e17376, 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0017376.
75. SACKS, David L.; MELBY, Peter C. Animal Models for the Analysis of Immune Responses to Leishmaniasis. *Current Protocols in Immunology*, [s. l.], v. 108, n. 1, 2015. doi: 10.1002/0471142735.im1902s108.
76. SHAKEEL, Muhammad *et al.* Emulgel-loaded mannosylated thiolated chitosan-coated silver nanoparticles for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s. l.], v. 227, p. 1293–1304, 2023. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.11.326.
77. SHEA, Beverley J *et al.* AMSTAR 2: a critical appraisal tool for systematic reviews that include randomised or non-randomised studies of healthcare interventions, or both. *BMJ*, [s. l.], p. j4008, 2017. doi: 10.1136/bmj.j4008.
78. REBOUÇAS-SILVA, Jéssica *et al.* Leishmanicidal and immunomodulatory properties of Brazilian green propolis extract (EPP-AF®) and a gel formulation in a pre-clinical model. *Frontiers in Pharmacology*, [s. l.], v. 14, p. 1013376, 2023. doi: 10.3389/fphar.2023.1013376.
79. REY, Luis. *Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 2a ed.ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 1991.

80. RIBEIRO-GOMES, Flavia L. *et al.* Site-Dependent Recruitment of Inflammatory Cells Determines the Effective Dose of *Leishmania major*. *Infection and Immunity*, [s. l.], v. 82, n. 7, p. 2713–2727, 2014. doi: 10.1128/IAI.01600-13.
81. RIEZK, Alaa *et al.* Activity of Amphotericin B-Loaded Chitosan Nanoparticles against Experimental Cutaneous Leishmaniasis. *Molecules*, [s. l.], v. 25, n. 17, p. 4002, 2020. doi: 10.3390/molecules25174002.
82. ROLÃO, Nuno; MELO, Cláudia; CAMPINO, Lenea. Influence of the inoculation route in BALB/c mice infected by *Leishmania infantum*. *Acta Tropica*, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 123–126, 2004. doi: 10.1016/j.actatropica.2003.09.010.
83. SCHUNEMANN, H. *et al.* Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach. 2013.
84. SEPÚLVEDA, Alex Arbey Lopera *et al.* Efficacy of photodynamic therapy using TiO₂ nanoparticles doped with Zn and hypericin in the treatment of cutaneous Leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, [s. l.], v. 30, p. 101676, 2020. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101676.
85. SERRANO-COLL, Héctor *et al.* Innate immune response: ally or enemy in cutaneous leishmaniasis?. *Pathogens and Disease*, [s. l.], v. 79, n. 5, p. ftab028, 2021. doi: 10.1093/femspd/ftab028. PMID: 34037758.
86. SHAMSEER, L. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *BMJ*, [s. l.], v. 349, n. jan02 1, p. g7647–g7647, 2015. doi: 10.1136/bmj.g7647.
87. SHIRMOHAMMAD, Sedigheh *et al.* Evaluation of Nanonanoliposomal Curcumin on Cutaneous Leishmaniasis Skin Lesions Caused by *Leishmania major* in BALB/c Mice. *Iranian Journal of Parasitology*, [s. l.], 2024. doi: 10.18502/ijpa.v19i2.15859.
88. SNIDER, Heidi *et al.* Sex Hormones and Modulation of Immunity against Leishmaniasis. *Neuroimmunomodulation*, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 106–113, 2009. doi: 10.1159/000180265.
89. SOLIMAN, Nadia; RICE, Andrew S.C.; VOLLERT, Jan. A practical guide to preclinical systematic review and meta-analysis. *Pain*, [s. l.], v. 161, n. 9, p. 1949–1954, 2020. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001974.
90. TEIXEIRA, C.; GOMES, R. Experimental models in vaccine research: malaria and leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 109–116, 2013. doi: 10.1590/1414-431x20122460.

91. TÉLLEZ, Jair *et al.* Use of liposomal nanoformulations in antileishmania therapy: challenges and perspectives. *Journal of Liposome Research*, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 169–176, 2021. doi: 10.1080/08982104.2020.1749067.
92. ULLAH, Naeem *et al.* Photodynamic therapy in management of cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *Lasers in Medical Science*, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 226, 2024.. doi: 10.1007/s10103-024-04174-0.
93. VITAL-FUJII, D.G.; BAPTISTA, M.S. Progress in the photodynamic therapy treatment of Leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [s. l.], v. 54, n. 12, p. e11570, 2021. doi: 10.1590/1414-431X2021e11570.
94. WARE, JeanAnne M *et al.* Efficacy and Tolerability of Miltefosine in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases*, [s. l.], v. 73, n. 7, p. e2457–e2562, 2021. doi: 10.1093/cid/ciaa1238.
95. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis. 2023. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1. Acesso em: 14 abr. 2023.
96. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 03 maio 2024.
97. YAMAMOTO, Eduardo S. *et al.* The Effect of Ursolic Acid on *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Is Related to Programed Cell Death and Presents Therapeutic Potential in Experimental Cutaneous Leishmaniasis. *PLOS ONE*, [s. l.], v. 10, n. 12, p. e0144946, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0144946.
98. YOUNIS, Brima Musa *et al.* Safety and efficacy of paromomycin/miltefosine/liposomal amphotericin B combinations for the treatment of post-kala-azar dermal leishmaniasis in Sudan: A phase II, open label, randomized, parallel arm study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, [s. l.], v. 17, n. 11, p. e0011780, 2023. doi: 10.1371/journal.pntd.0011780.
99. ZADEH MEHRIZI, T. *et al.* Comparative analysis between four model nanoformulations of amphotericin B-chitosan, amphotericin B-dendrimer, betulinic acid-chitosan and betulinic acid-dendrimer for treatment of *Leishmania major*: real-time PCR assay plus. *International Journal of Nanomedicine*, [S. l.], v. 14, p. 7593–7607, 24 set. 2019. doi: 10.2147/IJN.S220410.
100. ZAHIRI, M. *et al.* Therapeutic effect of *Scrophularia striata* ethanolic extract against localized cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*

(MRHO/IR/75/ER). Iranian Journal of Public Health, Tehran, v. 45, n. 10, p. 1340–1347, out. 2016.

Artigos incluídos na revisão:

1. ALBALAWI, Aishah E. *et al.* A Systematic Review of Curcumin and its Derivatives as Valuable Sources of Antileishmanial Agents. *Acta Parasitologica*, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 797–811, 2021. doi: 10.1007/s11686-021-00351-1.
2. ALMOHAMMED, Hamdan I. *et al.* Chitosan-Based Nanomaterials as Valuable Sources of Anti-Leishmanial Agents: A Systematic Review. *Nanomaterials*, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 689, 2021. doi: 10.3390/nano11030689.
3. BEZEMER, Jacob M. *et al.* Safety and efficacy of allylamines in the treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: A systematic review. *PLOS ONE*, [s. l.], v. 16, n. 4, p. e0249628, 2021. doi: 10.1371/journal.pone.0249628.
4. CABRAL, F. V. *et al.* Towards effective cutaneous leishmaniasis treatment with light-based technologies. A systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, [S. l.], v. 221, p. 112236, ago. 2021. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112236.
5. CORREA-BARBOSA, Juliana *et al.* Activity of the genus *Zanthoxylum* against diseases caused by protozoa: A systematic review. *Frontiers in Pharmacology*, [s. l.], v. 13, p. 873208, 2023. doi: 10.3389/fphar.2022.873208.
6. DE LARA DA SILVA, Célia Eliane *et al.* Effect of essential oils on *Leishmania amazonensis*: a systematic review. *Parasitology*, [s. l.], v. 147, n. 13, p. 1392–1407, 2020. doi: 10.1017/S0031182020001304.
7. PEREIRA, Meliana Borilli *et al.* In Vivo Efficacy of Meglumine Antimoniate-Loaded Nanoparticles for Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review. *Nanomedicine*, [s. l.], v. 16, n. 17, p. 1505–1518, 2021. doi: 10.2217/nnm-2021-0119.
8. RAMOS-MILARÉ, Áquila Carolina Fernandes Herculano *et al.* The anti-*Leishmania* potential of bioactive compounds derived from naphthoquinones and their possible applications. A systematic review of animal studies. *Parasitology Research*, [s. l.], v. 121, n. 5, p. 1247–1280, 2022. doi: 10.1007/s00436-022-07455-1.
9. SABERI, Reza *et al.* A Systematic Literature Review of Curcumin with Promising Antileishmanial Activity. *Infectious Disorders - Drug Targets*, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 363–369, 2021. doi: 10.2174/1871526520666200525013458.

10. SANTANA, Érica Silva De *et al.* Nanotechnology as an alternative to improve the treatment of cutaneous leishmaniasis: A systematic review of the literature. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, [s. l.], v. 75, p. 103622, 2022. doi: 10.1016/j.jddst.2022.103622.
11. SYDOR, Bruna Gomes *et al.* Plants of the Phytolaccaceae family with antimicrobial activity: A systematic review. *Phytotherapy Research*, [s. l.], v. 36, n. 9, p. 3505–3528, 2022. doi: 10.1002/ptr.7557.
12. TAJBAKHSH, Elahe *et al.* The effects of medicinal herbs and marine natural products on wound healing of cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *Microbial Pathogenesis*, [s. l.], v. 161, p. 105235, 2021. doi: 10.1016/j.micpath.2021.105235.

8 APÊNDICES

Apêndice A

Apêndice A. Estudos incluídos (n=12) e excluídos (com as razões de exclusão, n=24).

Studies INCLUDED Title	Year	Pages	Authors	Included
A Systematic Review of Curcumin and its Derivatives as Valuable Sources of Antileishmanial Agents	2021	797-811	Albalawi et al.	Included
Chitosan-Based Nanomaterials as Valuable Sources of Anti-Leishmanial Agents: A Systematic Review	2021		AlMohammed et al.	Included
Safety and efficacy of allylamines in the treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: A systematic review	2021	e0249628	Bezemer et al.	Included
Towards effective cutaneous leishmaniasis treatment with light-based technologies. A systematic review and meta-analysis of preclinical studies	2021	112236	Cabral et al.	Included
Activity of the genus <i>Zanthoxylum</i> against diseases caused by protozoa: A systematic review	2023		Correa-Barbosa et al.	Included
Effect of essential oils on <i>Leishmania amazonensis</i> : a systematic review	2020	1392-1407	da Silva et al.	Included
In vivo efficacy of meglumine antimoniate-loaded nanoparticles for cutaneous leishmaniasis: a systematic review	2021	1505-1518	Pereira et al.	Included
The anti- <i>Leishmania</i> potential of bioactive compounds derived from naphthoquinones and their possible applications. A systematic review of animal studies	2022	1247-1280	Ramos-Milare et al.	Included
A Systematic Literature Review of Curcumin with Promising Antileishmanial Activity	2021	363-369	Saberi et al.	Included
Nanotechnology as an alternative to improve the treatment of cutaneous leishmaniasis: A systematic review of the literature	2022		Santana et al.	Included
Plants of the Phytolaccaceae family with antimicrobial activity: A systematic review	2022	3505-3528	Sydor et al.	Included
The effects of medicinal herbs and marine natural products on wound healing of cutaneous leishmaniasis: A systematic review	2021	105235	Tajbakhsh et al.	Included
Studies EXCLUDED with exclusion reason Title	Year	Pages	Authors	Reason for exclusion
Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: A systematic review of preclinical evidence	2022		Raimundo et al.	population
Nanoparticles for the treatment of visceral leishmaniasis: review	2023		de Santana et al.	population
Could combination chemotherapy be more effective than monotherapy in the treatment of visceral leishmaniasis? A systematic review of preclinical evidence	2022	751-764	Bastos et al.	population
A systematic review of pentacyclic triterpenes and their derivatives as chemotherapeutic agents against tropical parasitic diseases	2016	1219-1231	Isah et al.	population
A review of quercus infectoria (Olivier) galls as a resource for anti-parasitic agents: In vitro and in vivo studies	2019	19-34	Nik Mat Zin et al.	population
Systematic Review of Host-Mediated Activity of Miltefosine in Leishmaniasis through Immunomodulation	2019		Palić et al.	population

A Systematic Review of Drug-Carrying Nanosystems Used in the Treatment of Leishmaniasis	2023	423-449	Registre et al.	population
Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis	2017	63-80	Soosaraei et al.	not PRISMA
Application of Medicinal Plants in Treatment of Leishmaniasis: A Scoping Review Study	2022	297-310	Ahady et al.	publication type
Advances in the treatment of cutaneous leishmaniasis in the new world in the last ten years: a systematic literature review	2011	497-506	Almeida et al..	population
Miltefosine: A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis	2012	2576-2597	Dorlo et al.	study design
Nanoemulsions of essential oils: new tool for control of vector-borne diseases and in vitro effects on some parasitic agents	2019	42	Echeverría et al.	study design
Aloe vera in dermatology: a brief review	2009	85-91	Feily et al.	study design
The leishmanicidal activity of essential oils: A systematic review	2020	300-308	Ghadimi et al.	population
Natural and synthetic coumarins as antileishmanial agents: A review	2020	112514	Goncalves et al.	study design
Efficacy of miltefosine compared with glucantime for the treatment of cutaneous leishmaniasis: a systematic review and meta-analysis	2019	e2019011	Iranpour et al.	population
Advances in research of dihydroartemisinin against parasitic diseases	2011	460-464	Li et al.	population
Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside, a systematic review	2020		Manzione et al.	population
Psidium guajava L., from ethnobiology to scientific evaluation: Elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms	2016	1140-1152	Morais-Braga et al.	population
Efficacy and Safety of Paromomycin for Visceral Leishmaniasis: A Systematic Review	2021		Pokharel et al.	population
Colombian Contributions Fighting Leishmaniasis: A Systematic Review on Antileishmanials Combined with Chemoinformatics Analysis	2020		Sánchez-Suárez et al.	population
Systematic review of antiprotozoal potential of antimicrobial peptides	2022	106675	Santos et al.	outcome
Coumarins as Potential Antiprotozoal Agents: Biological Activities and Mechanism of Action	2021	1-20	Sierra et al.	study design
Compounds from African medicinal plants with activities against selected parasitic diseases: Schistosomiasis, trypanosomiasis and leishmaniasis	2018	151-169	Simoben et al.	study design

Apêndice B

Apêndice B. Link da tabela de extração de dados completa disponível em Excel.

Link para acesso (como leitor): Extraction data overview_validating (Lemos et al).xls.

Apêndice C

Apêndice C. PRISMA 2020 lista de itens conforme artigo da dissertação

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	1
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	2
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	3
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	4
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	4
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	5
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	5
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	5
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	6
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	6
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	6
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	6
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	NA
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	5 (table 1)
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	7 (prism figure)
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	According to the tables in the article
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	28
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	28
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	NA
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	28

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
nt			
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	28
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	7 (Figure 1)
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	Appendix C. File S3. List of included and excluded studies (with reason)
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	8 (table 2), 9 (table 3), 15 (table 4), 22 (table 5)
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	28 (box 1)
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	NA
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	30 (table 7)
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	30 (table 7)
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	28, 29, 30, 31
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	NA
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	30
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	30 (table 7)
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	29
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	32
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	32
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	32
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	OSF (doi.org/10.17605/OSF.IO/42U7V)
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	OSF (doi.org/10.17605/OSF.IO/42U7V)
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	OSF (doi.org/10.17605/OSF.IO/42U7V)
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	33
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	33
Availability of data, code and other	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	Attachments

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
materials			

Fonte: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71. This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>