



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τμήμα Ιατρικής

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών: Μεθοδολογία
Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική
Βιοπληροφορική

Καθηγητής: Η. Ζιντζαράς

Μεταπτυχιακή Εργασία

Assess the reporting quality of RCTs in Leishmaniosis
published from 2002 to 2022 using the CONSORT statement

Αξιολόγηση της αναφερόμενης ποιότητας τυχαιοποιημένων
κλινικών μελετών στη Λεισμανίωση από το 2002 έως το 2022
με τη χρήση του CONSORT

Φοιτήτρια: Μπατάλα Δήμητρα

Τριμελής επιτροπή:

1. Δοξάνη Χρυσούλα
2. Στεφανίδης Ιωάννης
3. Ζιντζαράς Ηλίας

Σεπτέμβριος 2022

Assess the reporting quality of RCTs in Leishmaniosis published from 2002 to 2022 using the CONSORT statement.

ABSTRACT

PURPOSE: Randomized controlled trials (RCTs) are the best tool to evaluate the effectiveness of clinical interventions. The CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) statement is an evidence based approach to improve the quality of reporting of RCTs. The aim of this study was to evaluate the reporting quality of published RCTs about Leishmaniosis in dogs published from 2002 to 2022 according to a checklist based on the CONSORT statement.

METHODS: PubMed was searched for English-language RCTs about Leishmaniosis in dogs. Trials were considered eligible when dogs were randomly assigned to at least two different pharmaceutical interventions. Quality of reporting was assessed using a 38-item questionnaire based on the CONSORT checklist. Articles were grouped in two 10-year periods and comparisons were made using descriptive statistics.

RESULTS: The search identified 16 eligible articles for analysis. 18 of the 38 items of the checklist were addressed in 75% or more of the studies. Reporting of more than 75% of CONSORT items was increased during the two equal time periods (2002-2011 and 2012-2022) but it was not significant ($p_{\text{value}}=0.106$).

CONCLUSIONS: Quality of reporting in RCTs about Leishmaniosis in dogs is showing improvement over time but remains unsatisfactory. Further improvement of reporting is necessary to assess the validity of clinical research.

Αξιολόγηση της αναφερόμενης ποιότητας τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών στη Λεϊσμανίωση από το 2002 έως το 2022 με τη χρήση του CONSORT

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΚΟΠΟΣ: Οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες (RCTs) είναι το καλύτερο εργαλείο για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των κλινικών παρεμβάσεων. Το CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) statement είναι μία τεκμηριωμένη προσέγγιση για την βελτίωση της ποιότητας των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών. Ο σκοπός αυτής της εργασίας ήταν να αξιολογήσει την αναφερόμενη ποιότητα των δημοσιευμένων τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών σχετικά με τη Λεϊσμανίωση των σκύλων από το 2002 έως το 2022 σύμφωνα με ένα checklist βασισμένο στο CONSORT statement.

ΜΕΘΟΔΟΙ: Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στο PubMed για τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες στην αγγλική γλώσσα σχετικές με τη Λεϊσμανίωση στους σκύλους. Οι δοκιμές ήταν επιλέξιμες όταν οι σκύλοι είχαν χωριστεί τυχαία σε τουλάχιστον δύο διαφορετικές ομάδες φαρμακευτικής παρέμβασης. Η ποιότητα των κλινικών δοκιμών αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας ένα ερωτηματολόγιο 37 σημείων βασισμένο στο CONSORT checklist. Τα άρθρα κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο περιόδους των δέκα ετών και η σύγκριση έγινε χρησιμοποιώντας περιγραφική στατιστική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Η αναζήτηση εντόπισε 16 επιλέξιμα άρθρα για ανάλυση. 18 από τα 37 αντικείμενα του checklist βρέθηκαν σε συμφωνία σε πάνω από το 75% των μελετών. Παρόλο που η αναφορά πάνω από το 75% αντικειμένων του CONSORT αυξήθηκε κατά την διάρκεια των δύο όμοιων χρονικά περιόδων (2002-2011 και 2012-2022), η αύξηση δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p_{\text{value}}=0,106$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Η ποιότητα των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών σχετικά με τη λεϊσμανίωση στους σκύλους δείχνει βελτιωμένη με την πάροδο του χρόνου αλλά παραμένει μη ικανοποιητική. Περαιτέρω βελτίωση της ποιότητας των κλινικών δοκιμών είναι απαραίτητη για την εκτίμηση της εγκυρότητας των παρεμβάσεων.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λειψμανίωση των σκύλων είναι μια δυνητικά θανατηφόρος παρασιτική νόσος που οφείλεται στο πρωτόζωο – παράσιτο *Leishmania infatum*¹. Πρόκειται για μια ασθένεια που έχει παγκόσμια διάδοση και ενδημεί στις Μεσογειακές χώρες και τη Νότια Αμερική². Η μετάδοσή της γίνεται από το τσίμπημα μολυσμένης με το παράσιτο σκνίπας και το μολυσμένο έντομο μπορεί να μεταδώσει το παράσιτο από σκύλο σε σκύλο ή από σκύλο σε άνθρωπο προκαλώντας τη νόσο³. Ο σκύλος είναι η κύρια αποθήκη του παρασίτου *L. Infatum*⁴, επομένως η πρόληψη της ασθένειας στους σκύλους και η αποτελεσματική θεραπεία σε περιπτώσεις νόσησης, θεωρείται κομβικής σημασίας τόσο για τους σκύλους όσο και για τη δημόσια υγεία⁵.

Οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες θεωρούνται το καλύτερο βοήθημα για να μπορέσουμε να εκτιμήσουμε πόσο αποτελεσματικά έχουν διεξαχθεί οι κλινικές παρεμβάσεις⁶. Για να μπορέσουν οι αναγνώστες να αξιολογήσουν τη δύναμη και τους περιορισμούς των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών, είναι απαραίτητο να γνωρίζουν την ποιότητα των μεθόδων τους⁷. Η χρήση του CONSORT statement δείχνει να σχετίζεται με βελτιώσεις στην ποιότητα αναφοράς των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών⁸.

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η αξιολόγηση της αναφερόμενης ποιότητας των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών σχετικά με τη λειψμανίωση στους σκύλους που έχουν δημοσιευτεί από το 2002 μέχρι το 2022 με τη χρήση του CONSORT 2010.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Αναζήτηση άρθρων

Αναζητήθηκαν στο PubMed άρθρα με ημερομηνίες έναρξης την 1^η Ιανουαρίου 2002 και λήξης την 10^η Ιουλίου 2022 για αναφορές τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών σχετικά με την λεισμανίωση στους σκύλους. Ως κριτήριο αναζήτησης χρησιμοποιήθηκε η φράση «leishmaniosis». Ως κριτήρια εισόδου, χρησιμοποιήθηκαν οι όροι «Randomized Controlled Trial» στον τύπο του άρθρου, «English» στη γλώσσα και «Other Animals» στα είδη.

Επιλογή άρθρων

Επιλέχθηκαν οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες στις οποίες έγινε τυχαία κατανομή των σκύλων σε τουλάχιστον δύο διαφορετικές ομάδες φαρμακευτικής παρέμβασης.

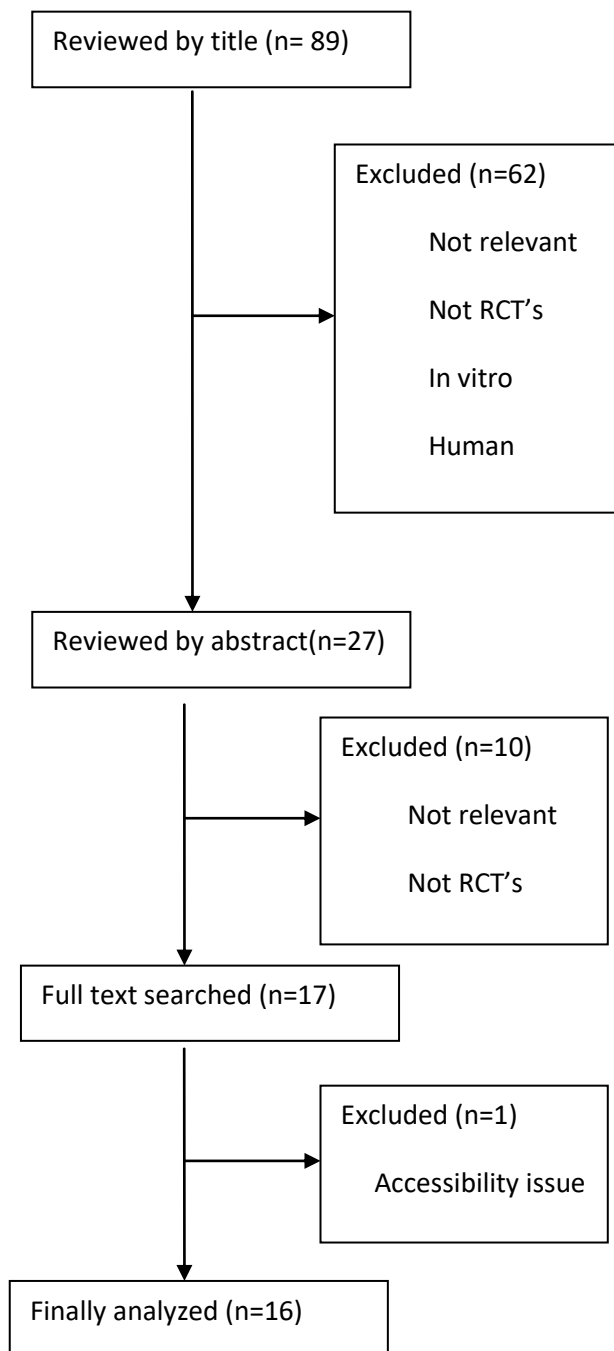
Εργαλείο αξιολόγησης

Για την αξιολόγηση έγινε χρήση του CONSORT checklist (updated as of 2010), το οποίο περιλαμβάνει 25 κύρια αντικείμενα και κάποια δευτερεύοντα αντικείμενα (στο σύνολο 37). Λόγω απουσίας πρότερης εκπαίδευσης του ερευνητή στην χρήση του CONSORT, έγινε χρήση του εγγράφου με τίτλο «CONSORT explanation and elaboration document». Από τις 16 μελέτες, οι 8 είχαν ημερομηνία δημοσίευσης μέχρι το 2010, ενώ οι υπόλοιπες 8 μετά το 2010. Έγινε χρήση της αναθεωρημένης έκδοσης του CONSORT για όλες τις μελέτες. Το πλήρες checklist που χρησιμοποιήθηκε υπάρχει στο Παράρτημα.

Αξιολόγηση – Ανάλυση

Η διαδικασία αξιολόγησης περιλάμβανε τη χρήση του Microsoft Excel 2010 και εφαρμόστηκε ως εξής: α) έγινε αξιολόγηση όλων των δεδομένων ως προς το βαθμό αναφοράς τους στα άρθρα και όχι ως προς το βαθμό εφαρμογής τους κατά την κλινική δοκιμή, β) σε περίπτωση που ένα δεδομένο αναφερόταν σε ξεχωριστό μέρος του άρθρου (Τίτλος, Περίληψη, Μέθοδοι, Αποτελέσματα, Συζήτηση, Άλλες πληροφορίες) λάμβανε αρνητική τιμή. Τα άρθρα χωρίστηκαν σε περιόδους, από το 2002 έως το 2011 και από το 2012 έως το 2022. Χωρίστηκαν επίσης τα αναφερόμενα αντικείμενα σε πέντε (5) ομάδες. 1. Τίτλος/Περίληψη και εισαγωγή 2. Μέθοδοι 3. Αποτελέσματα 4. Συζήτηση 5. Άλλες πληροφορίες.

Έγινε υπολογισμός του αριθμού των μελετών με ποσοστό συμμόρφωσης μεγαλύτερο του 75% με το checklist των 37 αντικειμένων (Συνολικά και ανά περίοδο). Επιπλέον, έγινε υπολογισμός του ποσοστού των αντικειμένων, στα οποία έγινε αναφορά σε τουλάχιστον 75% των άρθρων, τόσο στο σύνολο όσο και ανά ομάδα αντικειμένου (Τίτλος/περίληψη και εισαγωγή, μέθοδοι, αποτελέσματα, συζήτηση, άλλες πληροφορίες) σε περίοδο 20 ετών, αλλά και στις δύο περιόδους. Η σύγκριση μεταξύ των δύο χρονολογικών ομάδων διεξήχθη με τη χρήση χ^2 test.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επιλέξιμες μελέτες

Πραγματοποιήθηκε επεξεργασία 4 επιπέδων. Κατά τη διαδικασία αναζήτησης στο PubMed, τέθηκε ως όρος το αντικείμενο «leishmaniosis», με αποτέλεσμα την εύρεση 89 αποτελεσμάτων. Από αυτά τα 62 αποκλείστηκαν, μετά την εφαρμογή των μεθοδικών κριτηρίων αναζήτησης. Πρόκειται για μη σχετικά άρθρα, μη τυχαιοποιημένα, in vitro έρευνες και ανθρώπινα. Στις 27 εναπομείνουσες μελέτες έγινε επεξεργασία με βάση την περίληψή τους, κατά την οποία αποκλείστηκαν οι 10. Πρόκειται για μη σχετικές μελέτες, μη τυχαιοποιημένες. Οι εναπομείνουσες 17 μελέτες αναζητήθηκαν ολόκληρες όπου μία αποκλείστηκε λόγω αδυναμίας πρόσβασης. Ως εκ τούτου, έγινε αξιολόγηση και ανάλυση 16 μελετών, η λίστα των οποίων εντοπίζεται στο Παράρτημα.

Κύρια αποτελέσματα

Από τις 16 μελέτες, οι 8 είχαν δημοσιευτεί τη χρονολογική ομάδα 2002-2011 και οι 8 την αντίστοιχη του 2012-2022. Τα ποσοστά συμμόρφωσης των μελετών στο κάθε αντικείμενο συνολικά και ανά χρονική περίοδο φαίνονται στον *Πίνακα 1*.

18 αντικείμενα του εγχειριδίου ανάλυσης (47,4%) παρατηρούνται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 75% των μελετών το διάστημα 2002-2022, 12 (31,6%) το διάστημα 2002-2011, 20 (52,6%) το διάστημα 2012-2022. Τα ανωτέρω καταδεικνύουν αύξηση της συμμόρφωσης με το CONSORT μετά την αναθεώρηση του.

Τα νούμερα και τα ποσοστά των δεδομένων που εμφανίζονται με ποσοστό άνω του 75% των μελετών συνολικά και ανά χρονολογικό διάστημα αποτυπώνονται στον *Πίνακα 2* και *Διάγραμμα1*.

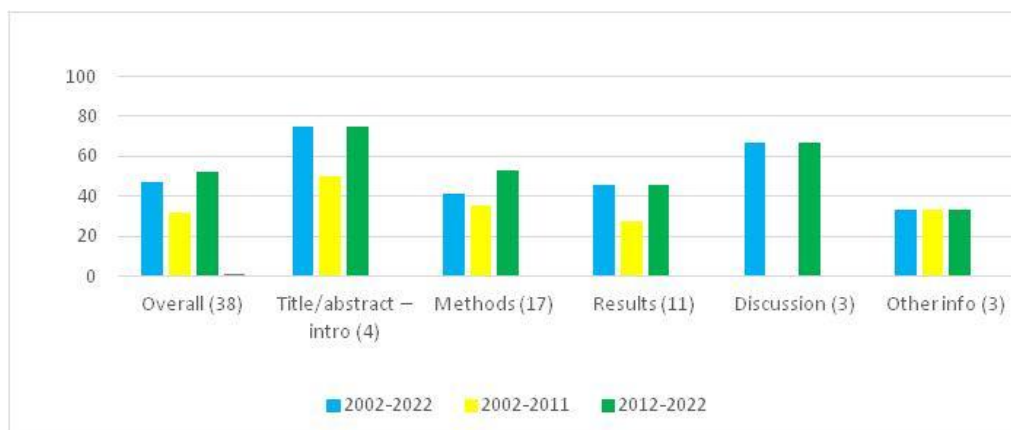
*Πίνακας 1. Συμμόρφωση (*100) των 37 αντικειμένων των 16 μελετών συνολικά και ανά χρονολογικό διάστημα.*

ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ CHECKLIST	2002-2022 n=16	2002-2011 n=8	2012-2022 n=8
ABSTRACT/TITLE			
1a	0,44	0,25	0,63
1b	1,00	1,00	1,00
INTRODUCTION			
2a	1,00	1,00	1,00
2b	0,75	0,5	1,00
METHODS			
3a	1	1,00	1,00
3b	0,38	0,25	0,5
4a	0,94	0,88	1,00
4b	1,00	1,00	1,00
5	1,00	1,00	1,00
6a	0,94	1,00	0,88
6b	0,13	0,25	0,0
7a	0,44	0,13	0,75
7b	0,19	0,00	0,38
8a	0,5	0,38	0,63
8b	0,31	0,13	0,5
9	0,19	0,13	0,25
10	0,69	0,5	0,88
11a	0,75	0,75	0,75
11b	0,5	0,38	0,63
12a	0,81	0,63	1
12b	0,25	0,25	0,25
RESULTS			
13a	0,75	0,75	0,75
13b	0,69	0,75	0,63
14a	0,88	0,75	1
14b	0,19	0,25	0,13
15	0,13	0,13	0,13
16	0,5	0,38	0,63
17a	0,75	0,63	0,88
17b	0,13	0,13	0,13
18	0,75	0,5	1,00
19	0,75	0,63	0,88
DISCUSSION			
20	0,75	0,63	0,88
21	0,31	0,25	0,38
22	0,75	0,5	1
OTHER INFO			
23	0,38	0,13	0,63
24	0,13	0,13	0,13
25	0,81	0,75	0,88

Πίνακας 2 Απόλυτα νούμερα και ποσοστά των αντικειμένων που αναφέρονται σε ποσοστό άνω του 75% των μελετών.

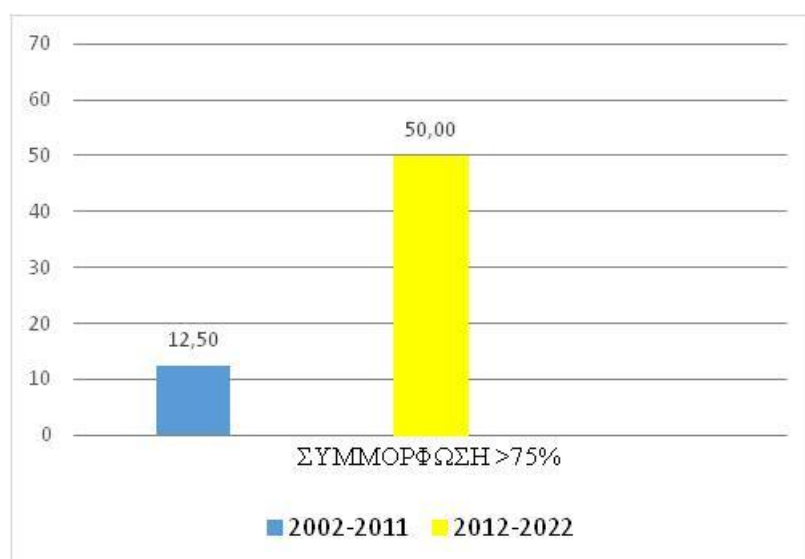
	2002-2022	2002-2011	2012-2022
Overall (37)	18 (47,4%)	12(31,6%)	20 (52,6%)
Title/abstract introduction (4)	3 (75%)	2 (50%)	4 (100%)
Methods(17)	7 (41,18%)	6(35,3%)	9 (52,9%)
Results(10)	5(45,45%)	3(27,3%)	5 (45,5%)
Discussion(3)	2(66,66%)	0(0,0%)	2 (66,7%)
other info(3)	1(33,33%)	1(33,33%)	1(33,33%)

Διάγραμμα 1



Η συμμόρφωση των μελετών σε ποσοστό άνω του 75% περιλάμβανε 5 μελέτες (31%), ενώ χωρισμένες στις δύο περιόδους έχουμε την περίοδο 2002-2011 1 μελέτη (12,5%) και την περίοδο 2012-2022 4 μελέτες (50%) όπως απεικονίζεται και στο Διάγραμμα 2. Παρά τη σημαντική αύξηση της συμμόρφωσης ανάμεσα στα δυο χρονολογικά διαστήματα, δεν πρόκειται για στατιστικά αξιοσημείωτη τιμή ($p_{\text{value}}=0,106$).

Διάγραμμα 2



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία κατέληξε στο συμπέρασμα ότι, η αναφερόμενη ποιότητα των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών για τη λεισμανίωση στους σκύλους, δεν προσεγγίζει τα ιδανικά επίπεδα βάσει του CONSORT checklist. Στις μελέτες δεν γίνεται ικανοποιητική αναφορά σε σημαντικό πλήθος αντικειμένων του εγχειριδίου ανάλυσης εκ των οποίων κάποια είναι κομβικής σημασίας. Συγκεκριμένα, το 8β (τύπος τυχαιοποίησης) συναντάται στο 31% των ερευνών, το 9 (μηχανισμός απόκρυψης διανομής) συναντάται στο 19% των ερευνών, το 24 (πρόσβαση στο συνολικό πρωτόκολλο) συναντάται στο 13% των ερευνών. Ορισμένα εξ αυτών δεν είναι κομβικής σημασίας όπως το 6β (οποιοσδήποτε αλλαγές στις εκβάσεις της δοκιμής ύστερα από το ξεκίνημα της δοκιμής, με αιτίες) και το 14β (γιατί η δοκιμή τερματίστηκε). Παρά την αδυναμία ιδανικής κάλυψης των αντικειμένων του CONSORT, παρατηρείται αύξηση των αναφερόμενων αντικειμένων προϊόντος του χρόνου, γεγονός που συντελεί στην βελτίωση της παρεχόμενης ποιότητας των ερευνών. Επισημαίνεται ότι, η παρούσα εργασία περιλαμβάνει και ορισμένους περιοριστικούς παράγοντες. Κύριος παράγοντας είναι η χρήση της αναθεωρημένης έκδοσης του CONSORT (2010) στο σύνολο των μελετών, ανεξαρτήτως του χρόνου δημοσίευσης. Επιπλέον, η αναζήτηση, αξιολόγηση και ανάλυση των μελετών διεξήχθη από ένα μόνο άτομο, συντελώντας σε ενδεχόμενη υποβάθμιση της αξιοπιστίας της ακολουθούμενης διαδικασίας.

Εν κατακλείδι, κατά τη διαδικασία αξιολόγησης της αναφερόμενης ποιότητας των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών για τη λεισμανίωση στους σκύλους, παρατηρήθηκε μια στατιστικά μη σημαντική αύξηση μεταξύ των χρονικών περιόδων. Περαιτέρω αναβάθμιση της παρεχόμενης ποιότητας στις τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές, θα συντελούσε στη λήψη κατάλληλων κλινικών αποφάσεων για τον έλεγχο

και τη θεραπεία της νόσου, η οποία θεωρείται μείζονος σημασίας τόσο για τους σκύλους όσο και τη δημόσια υγεία.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Mylonakis ME . A randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* 2001; 98:247-61
2. Dujardin JC, Campino L, Canavate C et al. Spread of vectorborne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerging Infectious Diseases* 2008;14:1013-7
3. Sabaté D, Llinás J, Homedes J, Sust M, Ferrer L. A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Prev Vet Med.* 2014 Jul 1;115(1-2):56-63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.010. Epub 2014 Mar 22. PMID: 24698328.
4. Alvar J, Canavate C, Molina R et al. Canine leishmaniasis . *Advances in Parasitology* 2004; 57:1-88
5. Miró G, Oliva G, Cruz I, Cañavate C, Mortarino M, Vischer C, Bianciardi P. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Vet Dermatol.* 2009 Oct;20(5-6):397-404. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x. PMID: 20178476.
6. Partsinevelou A, Zintzaras E. Quality of reporting of randomized controlled trials in polycystic ovary syndrome. *Trials.* 2009 Nov 20;10:106. doi: 10.1186/1745-6215-10-106. PMID: 19930576; PMCID: PMC2788535.
7. Moher D, Schulz KF, Altman DG; CONSORT Group. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Clin Oral Investig.* 2003 Mar;7(1):2-7. doi: 10.1007/s00784-002-0188-x. Epub 2003 Jan 31. PMID: 12673431.
8. Moher D, Jones A, Lepage L; CONSORT Group (Consolidated Standards for Reporting of Trials). Use of the CONSORT statement and quality of reports of randomized trials: a comparative before-and-after evaluation. *JAMA.* 2001 Apr 18;285(15):1992-5. doi: 10.1001/jama.285.15.1992. PMID: 11308436.

ΛΙΣΤΑ ΤΩΝ ΑΡΘΡΩΝ ΠΟΥ ΑΞΙΟΛΟΓΗΘΗΚΑΝ

1. Mohebbali M, Khamesipour A, Mobedi I, Zarei Z, Hashemi-Fesharki R. Double-blind randomized efficacy field trial of alum precipitated autoclaved *Leishmania major* vaccine mixed with BCG against canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, I.R. Iran. *Vaccine*. 2004 Sep 28;22(29-30):4097-100. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.03.058. PMID: 15364462.
2. Gradoni L, Foglia Manzillo V, Pagano A, Piantedosi D, De Luna R, Gramiccia M, Scalone A, Di Muccio T, Oliva G. Failure of a multi-subunit recombinant leishmanial vaccine (MML) to protect dogs from *Leishmania infantum* infection and to prevent disease progression in infected animals. *Vaccine*. 2005 Nov 1;23(45):5245-51. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.07.001. Epub 2005 Jul 18. PMID: 16054272.
3. Lemesre JL, Holzmuller P, Gonçalves RB, Bourdoiseau G, Hugnet C, Cavaleyra M, Papierok G. Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. *Vaccine*. 2007 May 22;25(21):4223-34. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.02.083. Epub 2007 Mar 15. PMID: 17395339.
4. Carson C, Antoniou M, Ruiz-Argüello MB, Alcamí A, Christodoulou V, Messaritakis I, Blackwell JM, Courtenay O. A prime/boost DNA/Modified vaccinia virus Ankara vaccine expressing recombinant *Leishmania* DNA encoding TRYP is safe and immunogenic in outbred dogs, the reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis. *Vaccine*. 2009 Feb 11;27(7):1080-6. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.11.094. Epub 2008 Dec 16. PMID: 19095029; PMCID: PMC2663027.
5. Trigo J, Abbehusen M, Netto EM, Nakatani M, Pedral-Sampaio G, de Jesus RS, Goto Y, Guderian J, Howard RF, Reed SG. Treatment of canine visceral leishmaniasis by the vaccine Leish-111f+MPL-SE. *Vaccine*. 2010 Apr 26;28(19):3333-40. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.02.089. Epub 2010 Mar 4. PMID: 20206667; PMCID: PMC2874835.
6. Regina-Silva S, Feres AM, França-Silva JC, Dias ES, Michalsky ÉM, de Andrade HM, Coelho EA, Ribeiro GM, Fernandes AP, Machado-Coelho GL. Field randomized trial to evaluate the efficacy of the Leish-Tec® vaccine against canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Vaccine*. 2016 Apr 27;34(19):2233-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.03.019. Epub 2016 Mar 18. PMID: 26997002.
7. Fernández Cotrina J, Iniesta V, Monroy I, Baz V, Hugnet C, Marañón F, Fabra M, Gómez-Nieto LC, Alonso C. A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniasis. *Vaccine*. 2018 Apr 5;36(15):1972-1982. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.02.111. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29525281.

8. Kasabalis D, Chatzis MK, Apostolidis K, Petanides T, Athanasiou LV, Xenoulis PG, Mataragka A, Ikonomopoulos J, Leontides LS, Saridomichelakis MN. A randomized, blinded, controlled clinical trial comparing the efficacy of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination with the efficacy of meglumine antimoniate-allopurinol combination for the treatment of canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Exp Parasitol*. 2020 Jul;214:107903. doi: 10.1016/j.exppara.2020.107903. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32360142.
9. Molina R, Espinosa-Góngora C, Gálvez R, Montoya A, Descalzo MA, Jiménez MI, Dado D, Miró G. Efficacy of 65% permethrin applied to dogs as a spot-on against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet Parasitol*. 2012 Jul 6;187(3-4):529-33. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.01.024. Epub 2012 Jan 28. PMID: 22336773.
10. Sabaté D, Llinás J, Homedes J, Sust M, Ferrer L. A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Prev Vet Med*. 2014 Jul 1;115(1-2):56-63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.010. Epub 2014 Mar 22. PMID: 24698328.
11. Saridomichelakis MN, Mylonakis ME, Leontides LS, Billinis C, Koutinas AF, Galatos AD, Gouletsou P, Diakou A, Kontos VI. Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*) in the endemic areas. *Vet Parasitol*. 2005 Jun 30;130(3-4):199-205. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.04.013. PMID: 15905034.
12. Franc M, Liénard E, Jacquiet P, Bonneau S, Navarro C, Bouhsira E. Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix®) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Vet Parasitol*. 2015 Sep 15;212(3-4):156-60. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.05.030. Epub 2015 Jun 18. PMID: 26169219.
13. Oliva G, Nieto J, Foglia Manzillo V, Cappiello S, Fiorentino E, Di Muccio T, Scalone A, Moreno J, Chicharro C, Carrillo E, Butaud T, Guegand L, Martin V, Cuisinier AM, McGahie D, Gueguen S, Cañavate C, Gradoni L. A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the LiESP/QA-21 vaccine in naïve dogs exposed to two leishmania infantum transmission seasons. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Oct 9;8(10):e3213. doi: 10.1371/journal.pntd.0003213. Erratum in: *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Nov;8(11):e3408. PMID: 25299614; PMCID: PMC4191955.
14. Brianti E, Napoli E, Gaglio G, Falsone L, Giannetto S, Solari Basano F, Nazzari R, Latrofa MS, Annoscia G, Tarallo VD, Stanneck D, Dantas-Torres F, Otranto D. Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniosis in a Highly Endemic Area. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Sep 15;10(9):e0004987. doi: 10.1371/journal.pntd.0004987. PMID: 27632527; PMCID: PMC5025139.
15. Miró G, Oliva G, Cruz I, Cañavate C, Mortarino M, Vischer C, Bianciardi P. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Vet Dermatol*. 2009

Oct;20(5-6):397-404. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x. PMID: 20178476.

16. Pennisi MG, De Majo M, Masucci M, Britti D, Vitale F, Del Maso R. Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. *Vet Rec.* 2005 Mar 12;156(11):346-9. doi: 10.1136/vr.156.11.346. Erratum in: *Vet Rec.* 2005 May 14;156(20):653. PMID: 15789648.