CAROLINA ROCIO OLIVEIRA SANTOS

**Uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no
tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa: análise da
experiência em um serviço de referência para o diagnóstico e
tratamento das leishmanioses, 2000-2015**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências
Programa de Doenças Infecciosas e
Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Valdir Sabbaga Amato

**São Paulo
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Carolina Rocio Oliveira

Uso da anfotericina B lipossomal e de outras
drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose
mucosa : análise da experiência em um serviço de
referência para o diagnóstico e tratamento das
leishmanioses, 2000-2015 / Carolina Rocio Oliveira
Santos. -- São Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientador: Valdir Sabbaga Amato.

Descritores: 1.Leishmania 2.Leishmania
braziliensis 3.Leishmaniose mucocutânea 4.Membrana
mucosa 5.Anfotericina B

USP/FM/DBD-139/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

Dedicatória

A Deus por me dar força e coragem para a caminhada. Por me fazer acreditar que cada novo dia será melhor que antes.

A meu esposo, Diogo, amigo e companheiro, pela paciência, amor e cuidado. Por ser meu maior incentivador, tornando os meus sonhos também os dele na caminhada da vida.

Às minhas filhas, Sofia e Malu, por tornarem esse mundo mais precioso, por serem, na minha vida, fonte de inspiração, de alegria e de amor.

Aos meus pais José Nilton e Eliana, por terem me ensinado preciosos valores, e por sempre me apoiarem em todos os meus sonhos e projetos.

A meu irmão, Bego, por todo amor que me oferta, e por sempre ter sido meu parceiro fiel ao longo da vida.

Aos meus sogros, Silvana e Paulo, pela disponibilidade em sempre ajudar quando solicitados, e por todo carinho recebido.

Agradecimentos

Ao Professor Dr. Valdir Sabbaga Amato, meu orientador, por sempre acreditar em mim, pela oportunidade de crescimento dentro do universo científico, pelo apoio na elaboração da tese e, principalmente pela amizade, a qual levarei por toda a vida.

Aos Professores Doutores Heitor Franco de Andrade Junior, Rui Imamura e José Eduardo Tolezano pelas idéias e sugestões durante o exame de qualificação, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

Aos Professores Doutores Antônio Carlos Nicodemo e Francisco Oscar de Siqueira França pelos ensinamentos e incentivo dentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos colegas da Residência de Infectologia, pela valiosa amizade, especialmente, Driele Peixoto Bittencourt e Maria Luísa Moura, pelo carinho e pelo suporte nas minhas vindas a São Paulo durante o cumprimento dos créditos para a tese.

Ao colega Raphael Abegão de Camargo por compartilhar o interesse científico pela leishmaniose mucosa e, principalmente, pela solicitude que sempre demonstrou para comigo.

Ao colega Dr. Felipe Francisco Tuon, pelo apoio científico.

À Regina Maia de Sousa pela disponibilidade em ajudar e pelo belo trabalho realizado no LIM 46.

À Roseli Antonia Santo, pelo cuidado e paciência, além da extrema competência com que se dedica ao programa de pós-graduação de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

A todos os funcionários da secretaria, da enfermaria e do ambulatório de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos pacientes da Enfermaria e do Ambulatório de Leishmanioses do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por terem participado desta pesquisa.

Epígrafe

"Um homem pode ser tão grande quanto ele queira ser. Se você acredita em si mesmo e tem coragem, determinação, dedicação, iniciativa competitiva e se você está disposto a sacrificar as pequenas coisas da vida e pagar o preço pelas coisas que valem a pena, isso pode ser feito."

(Vince Lombardi)

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos e periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Gráficos

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	06
2.1 Objetivo Geral	07
2.2 Objetivos Específicos	07
3 REVISÃO DA LITERATURA	08
3.1 Agente Etiológico e Formas de Transmissão	09
3.2 Formas Clínicas	10
3.3 A Leishmaniose Tegumentar Americana	11
3.3.1 Aspectos gerais.....	11
3.3.2 Aspectos clínicos e epidemiológicos	13
3.4 Leishmaniose Mucosa.....	17
3.5 Tratamento da Leishmaniose Mucosa	24
3.5.1 Antimonial Pentavalente.....	25
3.5.2 Pentamidina	28
3.5.3 Anfotericina B Desoxicolato.....	30
3.5.4 Anfotericina B Lipossomal	32
3.5.5 Outras drogas.....	36
3.5.6 Controle do tratamento.....	39
4 MÉTODOS	41
4.1 Casuística.....	42
4.2 Aspectos Éticos	42
4.3 Diagnóstico.....	43
4.4 Critérios de Inclusão e de Exclusão	44
4.5 Terapêutica Utilizada.....	44
4.6 Dados Analisados	46
4.7 Seguimento e Desfecho	48
4.8 Análise Estatística	48
5 RESULTADOS.....	50
5.1 Aspectos Clínicos e Epidemiológicos.....	51
5.2 Aspectos Laboratoriais	55
5.3 Tratamento	57
5.4 Tempo de Internação e de Seguimento	66

5.5 Desfecho	67
5.6 Dose de Anfotericina B.....	73
6 DISCUSSÃO	75
6.1 Aspectos Clínicos, Epidemiológicos e Laboratoriais	76
6.2 Aspectos Gerais Relacionados ao Tratamento da LM	85
6.2.1 Efeitos adversos.....	85
6.2.2 Interrupção de tratamento	93
6.3 Aspectos Relacionados ao Desfecho do Tratamento da LM.....	95
6.3.1 Análise dos principais desfechos em relação às drogas usadas na LM.....	95
6.3.2 Perfil dos pacientes que cicatrizaram após o tratamento da LM	102
6.3.3 Avaliação da relação custo e eficácia com o uso da AFBL	103
6.3.4 Dose da AFBL	104
7 CONCLUSÃO	107
8 ANEXOS	111
9 REFERÊNCIAS.....	119

ABDC	Anfotericina B Dispersão Coloidal
ABCL	Anfotericina B Complexo Lipídico
AFBL	Anfotericina B lipossomal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AVE	Acidente vascular encefálico
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
DMIP	Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias
ELISA	do inglês, Ensaio Imunoenzimático
FLAB	Formulações lipídicas da anfotericina B
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV	do inglês, Vírus da Imunodeficiência Humana
IDRM	Intradermorreação de Montenegro
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
IRA	Insuficiência renal aguda
LC	Leishmaniose cutânea
LIM	Laboratório de Investigação Médica
LM	Leishmaniose mucosa
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LV	Leishmaniose visceral
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	do inglês, Reação em cadeia da polimerase
Sb ⁺⁵	Antimonial pentavalente
TC	Tomografia computadorizada

Tabela 1	Características gerais dos pacientes com leishmaniose mucosa.....	52
Tabela 2	Sintomas e localização das lesões mucosas.....	53
Tabela 3	Principais achados no exame clínico otorrinolaringológico e no exame de imagem por método de Tomografia Computadorizada (TC) de seios da face.....	54
Tabela 4	Resultados dos exames diagnósticos usados em LM....	55
Tabela 5	Número de tratamentos prévios no último mês.....	57
Tabela 6	Ocorrência de efeitos adversos gerais no tratamento da LM.....	58
Tabela 7	Efeitos adversos relacionados à ingesta ou à infusão de medicamentos no tratamento da LM.....	59
Tabela 8	Efeitos adversos sistêmicos nos pacientes tratados para LM.....	61
Tabela 9	Comparação dos casos de Insuficiência Renal Aguda (IRA) nos pacientes tratados para LM entre as formulações lipídicas de anfotericina B o a anfotericina B desoxicolato.....	62
Tabela 10	Influência da variável tratamento prévio no desenvolvimento de IRA no grupo que recebeu anfotericina B lipossomal.....	63
Tabela 11	Mediana da idade e do clearance basal de creatinina dos pacientes que desenvolveram IRA durante o tratamento com anfotericina B.....	64
Tabela 12	Interrupções por evento adverso durante o tratamento.....	65
Tabela 13	Tempo de internação dos pacientes tratados para LM.....	66
Tabela 14	Tempo de seguimento dos pacientes tratados para LM.....	67
Tabela 15	Desfechos dos tratamentos dos pacientes com LM.....	68

Tabela 16	Desfechos de tratamento com o uso da anfotericina B lipossomal em relação às outras drogas na LM.....	69
Tabela 17	Análise dos desfechos de cada droga em relação à anfotericina B lipossomal no tratamento da LM.....	70
Tabela 18	Análise dos desfechos cicatrização e interrupção com o uso das formulações lipídicas de anfotericina B em relação à anfotericina B desoxicolato no tratamento da LM.....	71
Tabela 19	Perfil dos pacientes que cicatrizaram após receberem tratamento para LM.....	72
Tabela 20	Doses utilizadas pelos pacientes tratados com anfotericina B lipossomal.....	73
Tabela 21	Comparação entre as doses cumulativas de anfotericina B lipossomal de acordo com o desfecho....	73

Figura 1	Distribuição geográfica da leishmaniose cutânea e mucocutânea no novo mundo.....	3
Figura 2	Distribuição de espécies de <i>Leishmania</i> responsáveis pela transmissão de leishmaniose tegumentar americana, Brasil- 2005.....	12
Figura 3	Cicatriz de leishmaniose cutânea.....	16
Figura 4	Paciente com leishmaniose mucosa extensa e acometimento de vias aéreas, em uso do tubo T de silicone.....	20
Figura 5	Fórmula estrutural proposta do antimoniato de N-metilglucamina.....	26
Figura 6	Fórmula estrutural do isotionato de pentamidina.....	29
Figura 7	Fórmula estrutural da Anfotericina B.....	30
Figura 8	Desenho representativo da estrutura da AFBL.....	33
Figura 9	Desenho representativo da estrutura de ABDC (A) e de ABCL (B).....	38

Gráfico 1	Duração do início dos sintomas até o diagnóstico de LM em 50 pacientes.....	54
------------------	---	----

SANTOS CRO. *Uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa: análise da experiência em um serviço de referência para o diagnóstico e tratamento das leishmanioses, 2000-2015* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Introdução: As leishmanioses são antropozoonoses que constituem um grave problema de saúde pública por apresentarem um complexo espectro clínico de manifestações e relevante diversidade epidemiológica. Aproximadamente 5% dos pacientes com leishmaniose cutânea não tratada adequadamente irão desenvolver a leishmaniose mucosa (LM). As principais opções terapêuticas disponíveis para esta apresentação da doença são os antimoniais pentavalentes, a pentamidina e as anfotericinas B. As formulações lipídicas da anfotericina B tem sido desenvolvidas na tentativa de melhorar a eficácia e a tolerabilidade das anfotericinas, entretanto, ainda há escassez de estudos que avaliem eficácia, dose e segurança da anfotericina B lipossomal (AFBL) no tratamento da LM. **Objetivo:** Relatar a experiência do ambulatório e da enfermaria de um hospital escola com medicamentos usados no tratamento da leishmaniose mucosa, comparando a eficácia e a segurança da anfotericina B lipossomal com as outras drogas. **Métodos:** Foram avaliados os prontuários de todos os pacientes do Ambulatório de Leishmanioses do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP com diagnóstico confirmado de LM e tratados no período de janeiro de 2000 a julho de 2015. Dados clínicos e epidemiológicos foram descritos, e também avaliados os efeitos adversos e os desfechos com o uso das principais drogas para LM. **Resultados:** Foram avaliados 71 pacientes com leishmaniose mucosa e um total de 106 tratamentos. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (60,6%) e da Região Nordeste do Brasil (50%). Observou-se associação de flebite (46,2%) e de tremor (30,8%) com o grupo que recebeu anfotericina B complexo lipídico e maior desenvolvimento de artralgia (16%) no grupo que recebeu o antimonial. Os pacientes tratados com anfotericina B desoxicolato apresentaram a maior taxa de insuficiência renal aguda (57,10%) em relação aos demais grupos de drogas. O grupo que usou antimonial pentavalente foi o único que desenvolveu alterações nas enzimas pancreáticas (28%) e

alterações eletrocardiográficas (20%). Dos pacientes que usaram anfotericina B desoxicolato, 85,7% precisaram interromper definitivamente o tratamento, o que contribuiu para a pior taxa de cicatrização final (14,3%), enquanto a AFBL apresentou a melhor taxa (81,3%) quando comparada aos demais tratamentos, OR= 4,971 [1,829-13,508] (p= 0,001). O uso de itraconazol mostrou alta taxa de recidiva (63,6%). A dose média de AFBL usada no tratamento de LM foi 1907mg e 28,91mg/kg. Quando comparadas as drogas com a AFBL, a pentamidina foi a única que não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos desfechos de tratamento. **Conclusão:** A pentamidina e a AFBL mostraram-se, neste estudo, as melhores opções terapêuticas no tratamento da LM, sendo que a AFBL foi a droga com a maior taxa de cicatrização. Com base neste estudo e em outras experiências da literatura até o momento, o intervalo de dose compreendido entre 30 e 35 mg/kg é o que parece alcançar eficácia próxima a 100%. Sugerimos, portanto, uma dose cumulativa de 30 mg/kg para o tratamento da LM. Este estudo amplia a experiência com o uso do itraconazol e da pentamidina, e é o primeiro a descrever o uso da ABCL na LM. Apresenta, ainda, a maior casuística que conhecemos na literatura com o uso da AFBL, além de ser o primeiro estudo a compará-la com as demais drogas no tratamento da LM.

Descritores: *Leishmania*; *Leishmania braziliensis*; leishmaniose mucocutânea; membrana mucosa; anfotericina B.

Abstract

Santos CRO. *Use of liposomal amphotericin B and other drugs for the treatment of patients presenting with mucosal leishmaniasis: analysis of the experience in a referenced institute for the treatment of leishmaniasis, 2000-2015* [thesis].

São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

Introduction: Leishmaniasis are anthroponoses that constitute a severe problem of public health as they present with a complex spectrum of manifestations and relevant epidemiologic diversity. Approximately 5% of patients with untreated cutaneous leishmaniasis will develop mucosal leishmaniasis (ML). The main treatment options for this presentation are: pentavalent antimonials, pentamidine, and amphotericins B. The lipid formulations of amphotericin B have been developed to improve efficacy and tolerability, however, there are few studies that evaluate efficacy, dosage, and safety of liposomal amphotericin B (LAB) for treatment of ML. **Objective:** To report outpatient and inpatient experience of a hospital school with medications used for treatment of mucosal leishmaniasis by comparing the efficacy and safety of liposomal amphotericin B with other drugs. **Methodology:** The medical records of all patients of the Leishmaniasis Outpatient Clinic of the Department of Infectious and Parasitic Diseases of the Hospital das Clínicas of University of São Paulo were assessed. The patients had diagnosis of ML and were treated between January 2000 and July 2015. Epidemiologic and clinical data were described, as well as adverse effects and outcomes of the main drugs for treatment of ML. **Results:** Seventy-one patients with ML and a total of 106 treatments were assessed. The majority of the patients were male (60.6%) and from the Northeast of Brazil (50%). There was an association of phlebitis (46.2%) and tremor (30.8%) to the group that received amphotericin B lipid complex (ABLC). There was a higher development of arthralgia (16%) in the group that received the antimonial. Patients treated with deoxycholate amphotericin B presented with the highest level of acute kidney injury (57.1%) when compared to other drugs. The group who received pentavalent antimonial was the only one to develop pancreatic enzymes abnormalities (28%) and electrocardiographic abnormalities (20%). Within the patients who used deoxycholate amphotericin B, 85.7% had to discontinue the treatment,

contributing to the worst healing rate (14.3%). LAB presented with the best healing rate (81.3%) when compared to the other treatments, OR = 4.971 [1,829-13,508] ($p=0,001$). The use of itraconazole showed high recurrence rate (63.6%). The mean dosage of LAB for the treatment of ML was 1,907 mg and 28.91 mg/kg. When LAB was compared to other drugs, pentamidine was the only one with no statistical significance related to the outcomes of the treatment.

Conclusion: In this study, pentamidine and LAB were the best therapeutic options for the treatment of ML; LAB was the drug with better healing rate. Based on this study and other references in the literature, the dosage interval between 30 and 35 mg/kg appears to reach efficacy close to 100%. Therefore, our recommendation is the use of a cumulative dosage of 30 mg/kg for the treatment of ML. This study enhances the experience of itraconazole and pentamidine, and it is the first one to describe the use of ABLC for the treatment of ML. In addition, it presents the largest casuistic known in the literature with the use of LAB, and it is a pioneer in comparing this drug with other drugs in the treatment of ML.

Descriptors: *Leishmania*; *Leishmania braziliensis*; leishmaniasis, mucocutaneous; mucous membrane; amphotericin B.

1. Introdução

As leishmanioses são antropozoonoses que constituem um grave problema de saúde pública por representarem um complexo espectro clínico de manifestações de relevante diversidade epidemiológica. A Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 1983) estima que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de infecção em 88 países e são estimados 1,6 milhões de casos de leishmaniose por ano (500.000 visceral e 1,1 milhão cutânea ou mucocutânea) (WHO, 2008). Desses 1,6 milhões de casos estimados, somente 600.000 são notificados (WHO, 2008). Há cerca de 12 milhões de infectados atualmente (Silveira *et al.*, 1999).

Amplamente distribuída em todo o mundo (Américas, África, Europa e Ásia), a leishmaniose tegumentar (LT) é considerada pela OMS como uma das seis mais importantes doenças infecciosas devido a seu alto coeficiente de detecção e à capacidade de produzir deformidades (WHO, 1983). No continente Americano, há registro de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, com exceção do Chile e do Uruguai (Figura 1) (Vegas-Kerdel; Kerdel, 1992). Com a crescente demanda turística para a América do Sul, existem relatos recentes na literatura do diagnóstico de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em viajantes que transitaram neste continente (Scope *et al.*, 2003; Schwartz *et al.*, 2006; Solomon *et al.*, 2007).

FONTE: WHO, 2010

Figura 1 – Distribuição geográfica da leishmaniose cutânea e mucocutânea no novo mundo

Apesar do aumento global de sua incidência, a LTA continua a ser uma doença negligenciada e de pouco interesse por parte das autoridades públicas de saúde e dos profissionais que possam implementar atividades de pesquisa, de prevenção e de controle da doença (Reithinger *et al.*, 2007). Atinge endemicamente uma grande extensão do território brasileiro, expandindo-se para novas áreas a cada ano (Dorval *et al.*, 2006), e já alcança todas as unidades federadas do país (Brasil, 2010). De 1985 a 2005, verificou-se uma média anual de 28.568 casos autóctones registrados, sendo que os maiores coeficientes de detecção da doença em 2004 pertenceram aos Estados do Pará, Tocantins, Maranhão, Acre, Amazonas, Rondônia e Mato Grosso. (Brasil, 2010).

A leishmaniose tegumentar pode se expressar mais comumente como

lesão única (forma cutânea localizada), lesões disseminadas acneiformes (forma cutânea disseminada), lesões cutâneas extensas e grosseiras (forma cutânea difusa) e a forma mucosa, que ocorre meses ou anos após uma lesão cutânea inicial (Gutierrez *et al.*, 1991; Marzochi, 1992; Marzochi e Marzochi, 1994). A leishmaniose mucosa (LM) é considerada o polo hiper-responsivo da doença, pois determina uma resposta inflamatória exuberante com extensa destruição tecidual, habitualmente progressiva. Dessa forma, a LM possui apreciável morbidade, sendo considerada a forma mais grave da leishmaniose tegumentar. Além do acometimento mucoso e do envolvimento das fossas nasais, pode perfurar o septo e levar à destruição progressiva de cartilagens e de estruturas ósseas da face, além de poder disseminar-se pelas regiões da faringe, da laringe e até da traqueia. (Boaventura, 2006; Di Lella *et al.*, 2006; Amato *et al.*, 1995, 2008).

Em razão de sua distribuição demográfica e alto grau de morbidade, que se traduz não apenas em alterações estéticas, mas também em alterações de funcionalidade (Camargo *et al.*, 2010), a LM pode ser considerada um sério problema de saúde pública, cujo tratamento, portanto, deve ser iniciado logo após o diagnóstico (Brasil, 2010). As principais opções terapêuticas indicadas pelo Ministério da Saúde, na atualidade, para o tratamento da LM são os antimoniais pentavalentes, a pentamidina e a anfotericina B (Brasil, 2010). Essas medicações integram um cenário antigo do tratamento da LTA, mas, apesar do tempo, mantem uma boa eficácia. Entretanto, o tratamento da LM continua a ser desafiador, tanto pela possibilidade de recidivas (Tuon *et al.*, 2007), quanto pela busca por novas drogas que sejam menos tóxicas, com boa comodidade posológica e boa relação custo-benefício.

As formulações lipídicas da anfotericina B têm sido desenvolvidas na tentativa de melhorar a eficácia e a tolerabilidade das anfotericinas, especialmente no que tange à toxicidade renal. São ainda mais seletivas para lise de membrana celular de fungos e parasitas do que para as células de mamíferos, conferindo, assim, menor toxicidade (Martino, 2004).

A anfotericina B lipossomal (AFBL) é, atualmente, o medicamento de primeira linha preferido para o tratamento da leishmaniose visceral (WHO, 2005), sendo utilizado com sucesso para esse fim em diversos países (Bern *et*

al., 2006; Sundar *et al.*, 2004 e 2011). Nos casos de leishmaniose tegumentar em que todas as demais opções terapêuticas tenham sido utilizadas sem sucesso ou apresentem alguma contraindicação, experiências relatadas na literatura recomendam o uso da AFBL (Nonata *et al.*, 1997; Amato *et al.*, 2004, 2007a). Já se demonstrou, por exemplo, menos complicações com o uso dessa droga em relação à anfotericina B desoxicolato (Amato *et al.*, 2007a, 2008), mas ainda não há estudos que comparem diretamente as duas formulações entre si (Adler-Moore e Proffitt, 2002). Ainda é muito limitado o relato de experiências com o uso da anfotericina B lipossomal em pacientes apenas com LM. (Sampaio; Marsden, 1997; Nonata *et al.*, 1997, Abbas *et al.*, 2009; Amato 2000a, 2009, 2011; Rocio *et al.*, 2014).

O Ambulatório de Leishmanioses do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias (DMIP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) foi fundado em 1997, devido à sua grande demanda. Desde o ano de 2000, foram realizadas mais de 400 novas consultas para seguimento, diagnóstico e tratamento de leishmanioses. De todos os pacientes acompanhados no ambulatório, cerca de 80% apresentavam diagnóstico confirmado de leishmaniose mucosa e os outros 20% eram pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea e visceral. O fato de tratar-se de um serviço de referência nacional credenciado no Ministério da Saúde, com expressiva casuística de leishmaniose mucosa no Brasil, aliado à escassez de estudos que avaliem eficácia, dose e segurança da anfotericina B lipossomal, comparando-a com outras drogas no tratamento da LM, orientaram a condução deste estudo.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

- Relatar a experiência do ambulatório e da enfermaria de um hospital escola com medicamentos usados para o tratamento da leishmaniose mucosa, comparando a eficácia e a segurança da anfotericina B lipossomal com as outras drogas, no período de janeiro de 2000 a julho de 2015.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever os dados clínico-epidemiológicos dos pacientes com leishmaniose mucosa incluídos no estudo;
- Analisar os efeitos adversos, as taxas de cicatrização, de interrupção, de falha e de recidiva com o uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento da leishmaniose mucosa;
- Descrever a dose total da droga utilizada nos pacientes que foram tratados com as formulações lipídicas de anfotericina B.

3. Revisão da Literatura

3.1 Agente Etiológico e Formas de Transmissão

As leishmanioses são causadas por várias espécies de protozoários digenéticos da ordem Kinetoplastida, família Trypanomastidae, gênero *Leishmania*, que acometem o homem e outros mamíferos susceptíveis (Rotureau, 2006). São descritas cerca de 20 espécies de *Leishmania* capazes de causar doença no homem, agrupadas em dois subgêneros: *Leishmania* (*Leishmania*) e *Leishmania* (*Viannia*) (Floeter-Winter e Shaw, 2004). Este protozoário, parasita intracelular obrigatório, é transmitido pela picada das fêmeas dos insetos denominados flebotomíneos, pertencentes à Ordem Díptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae e Gênero *Lutzomyia*. É considerado o principal vetor responsável pela transmissão da leishmaniose no Novo Mundo, com mais de 25 espécies presentes na América do Sul (Furtado, 1989; Killick-Kendrick, 1999), e popularmente conhecido, dependendo da localização geográfica, como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros.

No hospedeiro vertebrado, a *Leishmania* apresenta-se sob a forma amastigota, parasitando células do sistema mononuclear fagocítico, com formato oval ou arredondado e aflagelada, de 2 a 5 µm de diâmetro. Na coloração de Giemsa o citoplasma cora-se em azul e seu grande núcleo em vermelho (Mandellet *et al.*, 2000). Já no hospedeiro invertebrado, a *Leishmania*, após atingir o tubo digestivo do vetor, apresenta um flagelo livre e alongado e o corpo de formato fusiforme com tamanho variando entre 10 a 15 µm de comprimento e 1,5 a 3,5 µm de largura. Essa forma é denominada promastigota (Mandell *et al.*, 2000; Focaccia, 2005).

Quatro a cinco dias após o repasto sanguíneo, as formas promastigotas desprendem-se do intestino do vetor, migram para as partes anteriores do tubo digestivo do flebótomo e alcançam o seu aparelho picador/sugador. O vetor, ao picar outro animal, inocula as formas promastigotas de *Leishmania* na pele, e, por um mecanismo ainda não totalmente esclarecido, que envolve receptores e ligantes em ambas superfícies, o parasito se adere à superfície dos macrófagos e das células de Langerhans e passa para o meio intracelular por meio de um processo de

fagocitose. Aqueles que se localizam dentro das células de Langerhans são levados aos linfonodos de drenagem e suas partículas antigênicas apresentadas ao sistema imune. Nos macrófagos, os parasitas internalizados ficam dentro do vacúolo parasitóforo (fagolisossoma) e desenvolvem mecanismos de defesa, conseguindo sobreviver neste ambiente potencialmente tóxico. As promastigotas perdem o flagelo e transformam-se em formas amastigotas, multiplicando-se por divisão binária até a ruptura da célula (Furtado, 1989; Vegas-Kerdel; Kerdel, 1992; Marsden, 1986). Com esse processo, inicia-se uma resposta inflamatória específica muito complexa, determinada tanto por características do hospedeiro quanto por características da espécie infectante de *Leishmania*, onde a intensidade e a qualidade dessa resposta definirão a evolução da doença para a cura espontânea, para formas autolimitadas (típicas ou atípicas) ou progressivas. (Gutierrez *et al.*, 1991; Amato 2000a).

3.2 Formas Clínicas

A leishmaniose pode ser classificada como visceral ou tegumentar. Além de ser causada por espécies distintas de *Leishmania*, a leishmaniose visceral (LV) causa uma doença crônica com comprometimento do sistema reticuloendotelial, que leva à hepatomegalia, à esplenomegalia e à pancitopenia, e configura um quadro sistêmico que pode levar também à morte (Murray, 2002). A leishmaniose tegumentar (LT), por sua vez, tende a ser uma doença localizada, embora raramente possa ocorrer o acometimento difuso da pele e de mucosas. Em razão dos diferentes aspectos clínicos da doença, a leishmaniose tegumentar é dividida nas formas cutânea localizada, recidiva cutis, cutânea difusa, cutânea disseminada e mucosa (Marzochi, 1992; Marzochi; Marzochi, 1994; Brasil, 2010).

Algumas espécies de *Leishmania* estão associadas, preferencialmente, a determinadas formas clínicas: a leishmaniose visceral com *Leishmania (L.) chagasi*; a forma cutânea difusa com a *Leishmania (L.) amazonensis* e a

leishmaniose mucosa com a *Leishmania (V.) braziliensis* (Ramos-E-Silva; de Moura Castro Jacques, 2002).

As leishmanioses são doenças de notificação compulsória no Brasil, onde são registrados cerca de 35.000 a 40.000 casos de LTA e de 5.000 a 6.000 casos de LV por ano (SINAN, 2009). Nas últimas décadas vem ocorrendo o crescimento progressivo do número de casos de ambas as formas clínicas (SINAN, 2009). As leishmanioses atravessam um processo de expansão geográfica crescente, que decorre da própria ação humana modificadora das áreas de florestas quando as transforma em regiões semiurbanizadas (Rotureau, 2006). No ano de 1999, no Estado de São Paulo, começaram a surgir os primeiros casos autóctones de LV, além da identificação de casos de LTA em cidades de grande e médio porte, como Campinas e Santo André (CVE, 2009).

3.3 A Leishmaniose Tegumentar Americana

3.3.1 Aspectos gerais

A leishmaniose tegumentar está amplamente distribuída pelo mundo, ocorrendo na Ásia, Europa, África e Américas, e apresenta diferenças epidemiológicas, clínicas e imunológicas decorrentes dos ecossistemas distintos (Murray *et al.*, 2005; Schwartz *et al.*, 2006; Reithinger *et al.*, 2007). Os casos de leishmaniose, nos quais ocorre o envolvimento de pele ou de mucosas por algumas espécies do gênero *Leishmania*, e que se distribuem ao longo do continente americano, desde 30° N (sul do Texas, nos Estados Unidos) até 30° S (ao norte da Argentina) (Vegas-Kerdel; Kerdel, 1992) denominam-se leishmaniose tegumentar americana.

As leishmanioses do continente americano são autóctones, de existência pré-colombiana e, provavelmente, existem desde a chegada do *Homo sapiens* ao continente, entre 30.000 e 10.000 anos atrás, tendo em vista lesões típicas dessas doenças em estatuetas e múmias Incas com mais de 4.000 anos (Camargo, 2008). Análises pela técnica da reação em cadeia da

polimerase (PCR) detectaram a presença do DNA da *Leishmania* em crânios datados de 1.000 anos a.C em um antigo cemitério Inca no Chile (Marsteller *et al.*, 2011).

No Brasil, Moreira (1895) identificou pela primeira vez a existência do botão endêmico dos países quentes, chamando “Botão da Bahia” ou “Botão de Biskra”. A confirmação de formas de leishmânias em úlceras cutâneas e nasobucofaríngeas ocorreram no ano de 1909 por Lindenberg. Splendore (1911) diagnosticou a forma mucosa da doença e Gaspar Vianna deu ao parasito o nome de *Leishmania brazilienses*. No ano de 1922, Aragão, pela primeira vez, demonstrou o papel do flebotomíneo na transmissão da leishmaniose tegumentar e mais tarde Forattini (1958) encontrou roedores silvestres parasitados em áreas florestais do Estado de São Paulo. No Brasil, as principais espécies de vetores envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcome* e *L. migonei*.

No Brasil já foram identificadas como causa de LTA sete espécies de *Leishmania* (Figura 2), sendo as principais: *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* e *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* (Marzochi; Marzochi, 1994; Barral *et al.*, 1991; Brasil; Guerra *et al.*, 2011).

FONTE: SVS/MS

Figura 2- Distribuição de espécies de *Leishmania* responsáveis pela transmissão de leishmaniose tegumentar americana, Brasil- 2005

Os roedores são os principais reservatórios da *L. (L.) amazonensis*, e sua distribuição ocorre desde o interior do Estado da Bahia, passa pelo norte de Minas Gerais e Goiás, e alcança toda a região norte do país. A *L. (V.) guyanensis* tem como principais reservatórios o tamanduá, o bicho preguiça e o rato do mato, e pode ser identificada em todos os Estados da região Norte do Brasil. A *L. (V.) braziliensis* possui a maior amplitude de distribuição, podendo ser encontrada desde a Bahia até o norte do Estado do Paraná, passando por Minas Gerais, interior de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo (Corredor *et al.*, 1990; Barral *et al.*, 1991; Cuba-Cuba *et al.*, 1991; Ishikawa *et al.*, 2002). Além destas, áreas da região amazônica também são acometidas. Trata-se, portanto, da espécie mais importante no Brasil e a principal espécie causadora da forma mucosa de leishmaniose tegumentar.

3.3.2 Aspectos clínicos e epidemiológicos

A LTA é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosas. É considerada, ainda, uma doença negligenciada (Camargo, 2008), devido à carência de estudos epidemiológicos para a identificação da prevalência das espécies causadoras desta enfermidade, e de estudos que visem à formulação de novas terapêuticas eficazes, menos tóxicas e com maior comodidade posológica. Ela ocorre em todos os Estados da federação, especialmente nas regiões Nordeste e Norte. São notificados cerca de 30.000 casos por ano, embora seja importante ressaltar que a real prevalência é difícil de ser estabelecida devido à subnotificação e ao diagnóstico incorreto da doença (Marzochi; Marzochi, 1994).

A LTA é uma infecção primariamente zoonótica, mas devido às mudanças no padrão de transmissão da doença, acomete, além de diversos animais silvestres e domésticos, o homem (Furtado 1989). Apresenta atualmente três perfis epidemiológicos (Brasil, 2010):

- a) Silvestre – em que a transmissão ocorre em áreas de vegetação primária (zoonose de animais silvestres);
- b) Ocupacional ou relacionado a lazer – em que a transmissão está associada à destruição desordenada das florestas para atividades de exploração e de ecoturismo (antropozoonose);
- c) Rural ou periurbano – em áreas de colonização (zoonose de matas residuais) ou periurbana, quando há adaptação do vetor ao peridomicílio (zoonose de matas residuais e/ou antropozoonose).

Historicamente, os casos no homem ocorrem acidentalmente quando este entra em contato com o ecossistema florestal primitivo, onde coexistem os mamíferos reservatórios (principalmente roedores ou preguiças) e os insetos vetores do agente etiológico. A LTA, entretanto, tem apresentado, no Brasil, alterações em seu perfil epidemiológico, com o surgimento de focos endêmicos não relacionados com a transmissão habitual silvestre clássica e a observação de um número crescente de casos de LTA adquirida na periferia de centros urbanos, não associados ao desmatamento (Pirmez *et al.*, 1998; Ramos-E-Silva; de Moura Castro Jacques, 2002). Tem-se observado Estados da Região Sudeste, como Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, onde praticamente não existem mais florestas nativas, apresentando transmissão em ambiente peridomiciliar. Este fato reforça a hipótese de que existam outros reservatórios, como o cão, que perpetuam a endemia nessas regiões, visto o isolamento freqüente de espécies de *Leishmania* causadoras de LTA nesses animais (Falqueto *et al.*, 1986; Tolezano, 1994).

A LTA acomete ambos os sexos e todas as faixas etárias, sendo que, no Brasil, 90% dos casos ocorrem em maiores de 10 anos de idade e 74% no sexo masculino. O período de incubação é, em média, de dois a três meses, podendo variar de 2 semanas a dois anos (Brasil, 2010), entretanto, há relatos com até 30 anos de duração (Sáenz *et al.*, 1989). Pode se apresentar como uma infecção inaparente, ou seja, quando há sorologia reagente e positividade da intradermorreação de Montenegro (IDRM), mas não se observa nenhuma lesão, seja cutânea ou mucosa, e nem história prévia da doença. Pode, ainda, apresenta-se isoladamente como linfadenopatia sem lesão de pele aparente

ou prévia, sendo, neste caso, a doença denominada leishmaniose linfonodal. Entretanto, a LTA é caracterizada classicamente por duas formas clínicas principais: a forma cutânea e, quando há, posteriormente, disseminação metastática para mucosas, principalmente as de nasofaringe, a forma mucosa (Marzochi; Marzochi, 1994; Brasil, 2010). É importante ressaltar que a manifestação clínica não dependerá apenas da espécie de *Leishmania* envolvida, mas também do estado imunológico do indivíduo infectado.

Após curto período de incubação (15 a 60 dias), aparece um nódulo pruriginoso, que progride para uma úlcera rasa, única ou múltipla. A lesão da leishmaniose cutânea (LC) apresenta-se na sua forma típica como uma úlcera indolor e costuma localizar-se em áreas expostas da pele, entretanto, pode haver dor quando há infecção bacteriana secundária. Apresenta formato arredondado ou ovalado; base eritematosa, infiltrada e de consistência firme; bordas bem-delimitadas e elevadas; fundo avermelhado e com granulações grosseiras (Brasil, 2010). Outros tipos de lesões cutâneas menos frequentes podem ser encontradas: papulares, nodulares (podendo assumir aspecto impetigóide ou ectimatóide), vegetantes e verruco-crostosas (Brasil, 2010). Ao redor da lesão principal poderão surgir enduração subcutânea e pápulas satélites, que podem coalescer formando placas. Podem surgir, ainda, novas lesões de LC em áreas traumatizadas. É frequente o envolvimento do cordão linfático com adenopatia satélite, e as lesões tendem à cura espontânea dentro de meses ou anos, mesmo quando não tratadas (Barral *et al.*, 1992), deixando uma cicatriz atrófica deprimida, com superfície lisa, áreas de hipo ou de hiperpigmentação e traves fibrosas (Figura 3).

FONTE: Imagem do acervo pessoal do Dr. Valdir S. Amato, professor doutor e chefe do Ambulatório de Leishmanioses do HCFMUSP

Figura 3- Cicatriz de leishmaniose cutânea

A LC pode se apresentar sob as seguintes formas clínicas segundo o Ministério da Saúde (Brasil, 2010):

- a) Forma cutânea localizada - A lesão é geralmente do tipo úlcera, única ou múltipla, com até 20 lesões. Na Região Norte, as lesões múltiplas são frequentemente causadas por *L. (V.) guyanensis* e parecem estar relacionadas às múltiplas picadas de *L. umbratilis*.
- b) Forma cutânea disseminada - Relativamente rara, observada em até 2% dos casos, é caracterizada inicialmente pelo aparecimento de múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme, distantes do local da picada. Pode haver acometimento mucoso concomitante, além de sinais e sintomas sistêmicos. As duas espécies reconhecidas como causadoras desta forma são a *Leishmania (V.) braziliensis* e a *Leishmania (L.) amazonensis*.
- c) Forma recidiva cutis - Quando após cicatrização, espontânea ou por cura medicamentosa, ocorre recidiva localizada geralmente na borda da lesão.

- d) Forma cutânea difusa - Forma clínica rara e grave, que ocorre em pacientes com anergia e deficiência específica na resposta imune celular a antígenos de *Leishmania*. No Brasil, a doença é causada pela *L. (L.) amazonenses* e as lesões cutâneas geralmente são extensas, podendo evoluir desde a formação de placas e exulcerações, até o aparecimento de nodulações e tubérculos de aspecto verrucoso e tumoral.

3.4 Leishmaniose Mucosa

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença que acompanha o homem desde a antiguidade (Allison *et al.*, 1982; Altamirano *et al.*, 2001; Altamirano Enciso e Marzochi, 2005), e sua principal complicação é a metástase para as mucosas, principalmente da nasofaringe, causando destruição de tecidos. A primeira descrição clínica adequada do comprometimento mucoso da leishmaniose foi realizada no Brasil por Antônio Carini em 1911. Ainda neste ano, uma descrição mais completa da doença foi desenvolvida por Escomel, no Peru, e outros relatos da doença foram publicados nas décadas seguintes quando, em 1948, Pessoa e Barreto realizaram uma excelente monografia sobre esta enfermidade (Marsden, 1986). A leishmaniose mucosa é uma doença endêmica importante em várias regiões da América Latina (Silveira *et al.*, 1999). A frequência da LM depende da espécie envolvida e de aspectos genéticos e imunológicos do hospedeiro, assim como da disponibilidade de meios diagnósticos e de tratamento. Nos países andinos, a doença atinge uma média de 7,1% da população; enquanto a Bolívia tem uma alta frequência, de 20%, no Brasil, a incidência pode variar de 0,4% a 2,7% (Goto; Lindoso, 2010). A globalização da economia e o consequente aumento das viagens estenderam o seu alcance a pessoas nos países desenvolvidos. Esta infecção é extremamente rara nos Estados Unidos e é encontrada, na maioria das vezes, entre os viajantes. A incidência de leishmaniose entre os viajantes que retornam de áreas endêmicas é de 38 por

1.000 pacientes com distúrbios cutâneos, e este número aumenta para 143 por 1.000 viajantes quando estes retornam da América do Sul com desordens cutâneas (Freedman *et al.*, 2006).

A LM tem como principal agente causador a *L. (V) braziliensis* (Grimaldi 1989), mas pode ser causada por outras espécies como a *Leishmania (V.) panamensis*, *Leishmania (V.) peruana*, *Leishmania (V.) guyanensis* e a *Leishmania (L.) amazonensis* (Barral *et al.*, 1991; Guerra *et al.*, 2011). É mais prevalente em homens acima de 40 anos e ocorre meses ou anos após a lesão cutânea inicial. Cerca de 3 a 5% dos pacientes com a forma cutânea irão desenvolver a LM (Jones *et al.*, 1987). Evidências demonstram que 90% dos casos acontecem dentro dos primeiros 10 anos (Brasil, 2010), e que 46% a 50% dentro de dois anos após a cicatrização (Brasil, 2010; Marsden, 1986). A maioria dos pacientes apresenta a cicatriz dessa lesão pregressa e lesão exclusivamente em mucosa (Marsden, 1986). Segundo Marsden (1986), apenas 14 a 28% dos doentes apresentam lesão em mucosa e pele simultaneamente, e sugere que o termo leishmaniose cutaneomucosa seja mais adequadamente aplicado apenas a esses casos (Marsden, 1986). A atual classificação do Ministério da Saúde (Brasil, 2010), entretanto, não propõe diferenciação entre os termos leishmaniose mucosa ou cutaneomucosa.

A LM é considerada a forma mais grave de leishmaniose tegumentar, que pode causar a destruição progressiva de cartilagens e de estruturas ósseas da face, da faringe e da laringe (Boaventura *et al.*, 2006; Amato *et al.*, 1995). Representa o polo hiperérgico e pauciparasitário da LTA, com intradermorreação de Montenegro (IDRM) fortemente positiva. Determina uma resposta inflamatória exuberante, associada à hiper-reatividade específica da célula T, habitualmente progressiva com extensa destruição tecidual e que ainda não está totalmente elucidada (Carvalho, 1985). Não há um modelo experimental adequado, com características semelhantes à doença humana, para a investigação da resposta imune causada pela *L. (V.) braziliensis*. (Barral *et al.*, 1993). Alguns estudos demonstraram que o perfil fenotípico das células inflamatórias é semelhante nessas duas formas de LTA, com exceção da ausência de linfócitos $\gamma\delta$ e de células de Langherhans na LM (Tapia *et al.*, 1994; Pirmez *et al.*, 1998). O que está bem estabelecido é que, para o controle

da infecção, é necessária a predominância da resposta imune celular com características de tipo 1, envolvendo linfócitos TCD4 e TCD8 e citocinas como IL-12, IFN- γ , fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), linfotóxina e algumas quimiocinas produzidas por macrófagos. Entretanto, na LM, o exagero na produção de citocinas do tipo 1, associado a uma produção relativamente baixa de IL-10 - que é capaz de modular a resposta e inibir a ativação de macrófagos - e a uma baixa capacidade de resposta a citocinas inibidoras da secreção de IFN- γ , sugerem que a incapacidade de promover uma modulação adequada da resposta do tipo 1 possa estar envolvida na patogênese desta grave manifestação clínica (Pirmez *et al.*, 1993). A patogênese da LM continua um mistério. A resposta imune é capaz de conter a multiplicação parasitária, logo os parasitas são escassos na lesão mucosa; entretanto, ela não é capaz de controlar ou combater a infecção, sendo o desbalanço do polo TH2 para TH1 o provável responsável pelas manifestações clínicas da doença.

A LM é caracterizada principalmente por lesões em mucosa de nasofaringe e de septo, culminando muitas vezes com a perfuração do mesmo, e, raramente, podem ser atingidas as conjuntivas oculares e as mucosas de órgãos genitais e do ânus (Brasil, 2010). Os principais sintomas de acometimento nasal são obstrução, epistaxe, formação de crostas, saída de secreção, dor, hiperemia e deformidade do local ou de regiões adjacentes da pele (Marsden, 1986; Brasil, 2010). Esse processo pode permanecer latente ou progredir com lesões destrutivas em palato mole, faringe, laringe e traquéia (Marsden 1986, Amato *et al.*, 1995) e, por conta disso, o indivíduo pode apresentar disfagia - com risco de desnutrição -, rouquidão, tosse e aspiração. Essa evolução pode culminar com a obstrução das vias aéreas e colocar em risco a vida do paciente (Marsden 1986; Gutierrez *et al.*, 1991; Marzochi *et al.*, 1994; Amato *et al.*, 1995; Palheta Neto *et al.*, 2008), sendo, portanto, em alguns casos, necessária a adoção de medidas para a proteção da via aérea (Figura 4).

FONTE: Imagem do acervo pessoal do Dr. Valdir S. Amato, professor doutor e chefe do Ambulatório de Leishmanioses do HCFMUSP

Figura 4- Paciente com leishmaniose mucosa extensa e acometimento de vias aéreas, em uso do tubo T de silicone

Indivíduos com LM podem sofrer, ainda, de sequelas crônicas, como rinossinusites e a desfiguração facial tardia (de Camargo *et al.*, 2014). Diversas alterações estruturais ocorrem, tais como erosão do septo e do osso nasal; colapso da pirâmide nasal e espessamentos da cavidade nasal, da nasofaringe, da pirâmide nasal e do palato mole, que revelam, além da característica destrutiva da doença, o favorecimento de perturbações na fisiologia da mucosa nasal, o que resulta no comprometimento do epitélio mucociliar, e leva, dessa forma, à obstrução dos óstios de drenagem e à estase de secreções dentro dos seios nasais (Bhattacharyya, 2007; de Camargo *et al.*, 2014).

Segundo o Ministério da Saúde, a LM pode se manifestar classicamente das seguintes formas (Brasil, 2010):

- a) Forma mucosa tardia - É a mais comum. Pode surgir vários anos após a cicatrização da forma cutânea. Classicamente, está associada às lesões cutâneas múltiplas ou de longa duração, às curas espontâneas ou aos tratamentos insuficientes da LC.
- b) Forma mucosa de origem indeterminada - Quando não é possível determinar evidência de LC prévia, provavelmente associada às infecções subclínicas ou lesões pequenas, não ulceradas, que teriam passado despercebidas sem deixar cicatrizes evidentes.
- c) Forma mucosa concomitante - Quando a lesão mucosa ocorre ao mesmo tempo da lesão cutânea ativa, porém à distância.
- d) Forma mucosa contígua - Quando ocorre propagação direta da lesão cutânea, ativa ou não, para a mucosa de orifícios naturais próximos.
- e) Forma mucosa primária - Ocorre eventualmente pela picada do vetor na mucosa ou semimucosa de lábio e genitais.

O diagnóstico diferencial da LM pode ser feito com paracoccidioidomicose, carcinoma epidermóide, carcinoma basocelular, linfomas, rinofima, rinosporidiose, histoplasmosse, entomoftromicose, hanseníase Virchoviana, sífilis terciária, perfuração septal traumática ou por uso de drogas, rinite alérgica, sinusite, sarcoidose, granulomatose de Wegener, granuloma letal de linha média e outras doenças mais raras (Marsden, 1986, 1994; Brasil 2010).

O diagnóstico da LM é baseado em aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais (Marfurt *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2005; Brasil, 2010). O diagnóstico clínico-epidemiológico pode, também, eventualmente, ser complementado pela resposta terapêutica. A confirmação do diagnóstico por métodos parasitológicos, entretanto, é de extrema importância, tendo em vista o grande número de doenças que fazem diagnóstico diferencial com a LTA, e, também, para aqueles casos com evolução clínica fora do habitual e/ou má resposta ao tratamento anterior.

- Diagnóstico epidemiológico: baseia-se em informações sobre residência, procedência remota, viagens para áreas endêmicas e a presença de lesões cutâneas prévias.
- Diagnóstico clínico: baseado no aspecto da lesão, portanto, deve-se realizar o exame otorrinolaringológico e, sempre que possível, complementá-lo com a laringoscopia e/ou fibroscopia.
- Diagnóstico laboratorial: utiliza-se a IDRM e/ou sorologias por meio das técnicas de reação por imunofluorescência indireta (RIFI) e do ensaio imunoenzimático (ELISA). A confirmação definitiva é realizada pelo encontro de formas amastigotas pelo exame parasitológico direto, ou através da cultura de material extraído da lesão ou de biópsia, além de sua visualização no exame anatomopatológico.

A Intradermorreação de Montenegro traduz uma resposta de hipersensibilidade retardada. É de grande valor presuntivo, em virtude da alta sensibilidade e especificidade para o gênero *Leishmania*, mas pode apresentar-se negativa nas primeiras 4 a 6 semanas do início das lesões, na leishmaniose cutânea difusa e em pacientes imunodeprimidos.

As reações sorológicas por imunofluorescência indireta e o ELISA são habitualmente as mais utilizadas (Kar, 1995). Embora não sejam específicas, uma vez que podem apresentar reações cruzadas com outros agentes infecciosos, como, por exemplo, aqueles do gênero *Trypanosoma*, *Mycobacteria*, *Plasmodium* e *Schistosoma* (Hayden; Persing, 2001), são ferramentas muito úteis para auxiliar no diagnóstico.

Entre os métodos confirmatórios, a pesquisa direta do parasita pode ser realizada por meio da punção aspirativa, da impressão por aposição e por biópsia (Cuba *et al.*, 1984; Ridley *et al.*, 1989), já o cultivo pode ser realizado em material obtido por punção aspirativa ou por biópsia. O meio de escolha é o NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) e o LIT (Liver Infusion Tryptose), entre 24°C e 26°C, nos quais o parasita cresce relativamente bem, entretanto, um dos grandes problemas no cultivo de lesões mucosas refere-se à contaminação das culturas por fungos e bactérias (Cuba Cuba *et al.*, 1986). O exame anatomopatológico de material obtido por biópsia da lesão na LM demonstra

uma reação inflamatória crônica inespecífica ou reação granulomatosa (Ridley *et al.*, 1989; Nunes *et al.*, 1993; Victoire *et al.*, 2003). O infiltrado inflamatório associado a alterações vasculares é sugestivo, mas não caracteriza isoladamente o diagnóstico específico da doença, exceto quando ocorre a visualização do parasita. Deve-se ressaltar que outros agentes devem ser descartados utilizando-se colorações adequadas para a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes, de fungos e de outras bactérias.

O diagnóstico da LM, na maior parte das vezes, é mais difícil, especialmente no caso de lesões antigas, pois as formas amastigotas são em geral escassas nas lesões (Cuba *et al.*, 1984; Ridley *et al.*, 1989; Nunes *et al.*, 1993). Além disso, certas técnicas de cultivo acelular em meios não definidos, como o NNN (Neal, Novy, Nicolle) e o BAB (do inglês, Blood Agar Base), podem ser pouco sensíveis para o cultivo da *L. (V.) braziliensis*, principal espécie de *Leishmania* causadora da LM. Recursos importantes, nesse caso, para ajudar na definição diagnóstica são: a pesquisa de antígenos do parasita nas lesões pelo método da imuno-histoquímica - que apresenta sensibilidade em torno de 60-70% (Nunes *et al.*, 1993; Amato, 1997; Amato *et al.*, 1998a) - e o método de biologia molecular, que utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR). Amostras convencionais de PCR quantitativa por via cutânea ou mucosa têm alta sensibilidade diagnóstica e alta especificidade, com valores acima de 80% (Adams *et al.*, 2014). É considerado o padrão ouro entre os testes diagnósticos da LM (Saldarriaga *et al.*, 2016), e tem sido utilizado também no intuito de identificar o subgênero de *Leishmania*, no estudo da fisiopatogenia da LTA, na quantificação de citocinas teciduais e no controle de tratamento. Entretanto, Primez *et al.* (1998 e 2000) observaram, utilizando a PCR, persistência do parasita em 81% (26/32) das cicatrizes de biópsias analisadas de LC, o que confirma a manutenção do agente, mesmo nas lesões clinicamente cicatrizadas, ressaltando, com isso, a maior utilidade dessa técnica como método diagnóstico em vez do uso no controle de cura.

3.5 Tratamento da Leishmaniose Mucosa

As opções de tratamento atualmente disponíveis para a LTA apresentam adequada resposta clínica com drogas de primeira, de segunda e de terceira escolha. Apesar de serem drogas já usadas há muitos anos no tratamento da LTA, a resposta se mantém eficaz, assim como a resistência a estes medicamentos não constitui um problema importante no Brasil. Entretanto, novas medicações estão em desenvolvimento, e algumas já se encontram em uso, mas necessitam de estudos adicionais, no intuito de sustentar ou provar melhor eficácia frente às drogas já disponíveis. O tratamento da LM pode ser realizado tanto em ambiente hospitalar como ambulatorial, sendo a decisão baseada na forma clínica da doença, estado geral do paciente, comorbidades e na droga a ser utilizada. Desse modo, frequentemente, faz-se necessário recorrer ao tratamento individualizado (Davidson, 1998). As drogas disponíveis no Brasil para LC e LM são as mesmas, e variam quanto à posologia.

Em razão da ampla distribuição demográfica e do alto grau de morbidade ocasionado pelas formas cutaneomucosas, ou pelo acometimento de mucosas isoladamente, o tratamento da leishmaniose deve ser iniciado assim que feito o diagnóstico. De acordo com conceitos atuais, o controle do tratamento deve ser realizado pela avaliação clínica a cada dois meses (WHO, 2010) e, preferencialmente, acompanhado pelo exame otorrinolaringológico a cada seis meses após término do tratamento (Amato *et al.*, 2008).

O tratamento da LM continua a ser um desafio, uma vez que a permanência de parasitas no tecido, mesmo após a cura, traz a possibilidade de recidivas - principalmente em casos de imunossupressão ou de uso de imunomoduladores (Tuon *et al.*, 2007) - e a pesquisa por drogas mais baratas, menos tóxicas e que possam ser tomadas por via oral é uma constante. Diversas medicações já foram ou ainda são utilizadas para o tratamento da LM, entre elas, o sulfato de aminosidine, o interferon gama associado ao antimonial pentavalente (Falcof *et al.*, 1994), o itraconazol (Amato *et al.*, 2000b), a miltefosina (Soto *et al.*, 2009) e o antimoniato de meglumina intra-lesional

(Zaraa *et al.*, 2012). A OMS e o Ministério da Saúde indicam, na atualidade, para o tratamento da LM os antimoniais pentavalentes como droga de primeira escolha. Não havendo resposta satisfatória com o tratamento pelo antimonial pentavalente, ou na vigência de alguma contra-indicação, as drogas de segunda escolha a serem usadas são a anfotericina B e as pentamidinas (isotionato de pentamidina e mesilato de pentamidina) (Amato *et al.*, 1998b, 2009; Brasil, 2010).

3.5.1 Antimonial Pentavalente

Os compostos de antimônio são conhecidos desde a Antiguidade para diversos fins terapêuticos, mas somente em 1912, Gaspar Vianna observou que o tártaro emético era eficaz na terapêutica também da leishmaniose tegumentar. Devido aos efeitos tóxicos e aos graves efeitos colaterais, os antimoniais trivalentes foram substituídos aos poucos por compostos pentavalentes. Bramachari, em 1920, desenvolveu o primeiro composto à base de antimônio pentavalente, o uréia estibamina, derivado ureico do ácido p-aminofenil estibínico. Em 1936, Schmidt introduziu na terapia médica o gluconato de antimônio (V) sódico, ou estibogluconato de sódio, conhecido comercialmente como Solustibosan® ou Pentostam® (Marsden, 1985; Berman, 1988a). Durante a Segunda Guerra Mundial, surgiu na França um medicamento alternativo ao até então gluconato de antimônio (V) sódico, o antimoniato de N-metilglucamina, comercializado como Glucantime® ou antimoniato de meglumina. Enquanto o estibogluconato de sódio é distribuído, até hoje, nos países de língua inglesa, a N-metilglucamina é comercializada nos países de línguas francesa e espanhola. Por mais de 90 anos, as drogas de primeira escolha para o tratamento das leishmanioses tem sido os antimoniais pentavalentes (Sb^{+5}) injetáveis (Herwaldt e Berman, 1992; Aronson *et al.*, 1998; Tuon *et al.*, 2008). Apesar do mesmo mecanismo de ação, Amato *et al.* (2007) mostraram melhor eficácia da meglumina, 88%, contra 51% de eficácia do estibogluconato (Amato *et al.*, 2007), porém alguns vieses podem

ter influenciado os resultados, como diferenças regionais na sensibilidade a essas drogas e uso de formulações genéricas, que podem afetar as composições e, conseqüentemente, a eficácia clínica, principalmente do estibogluconato. Uma meta-análise de 2008, entretanto, mostrou igual resultado em ambos os tratamentos, com 76,5% de sucesso (Tuon *et al.*, 2008).

O antimoniato de N-metilglucamina é a droga usada no Brasil e é indicada para todas as formas clínicas da LTA, embora as formas mucosas possam apresentar respostas mais lentas e maior possibilidade de recidivas (Netto *et al.*, 1990; Amato *et al.*, 2007a). O composto é obtido sinteticamente a partir do ácido antimônico e da N-metilglucamina - obtida previamente a partir da aminaçãõ redutora da glicose em presença de metilamina -, é solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos. Apesar de ser uma droga antiga, sua estrutura e composição ainda são indeterminadas (Figura 5).

FONTE: Rath *et al.*; 2003

Figura 5- Fórmula estrutural proposta do antimoniato de N-metilglucamina

Segundo os autores Roberts *et al.* (1998), a razão molar antimônio: N-metil-D-glucamina é de 1:1,37 e várias espécies complexas entre o antimônio e N-metil-D-glucamina coexistem em solução. Apresenta-se comercialmente em frasco-ampolas de 5 ml, que contém 1,5 g do antimoniato bruto, correspondente a 405 mg de Sb^{+5} , logo cada mililitro contém 81 mg de Sb^{+5} . Pouco se sabe sobre o mecanismo de ação, mas os antimoniais pentavalentes são considerados drogas leishmanicidas, pois parecem interferir na bioenergética das formas amastigotas, ao inibir tanto a glicólise quanto a

oxidação de ácidos graxos, o que leva à redução da formação de ATP e de GTP (Berman, 1988a e 1988b). Outro mecanismo aventado é o de ligação com sítios sulfidrílicos, que deflagra a morte desses protozoários (Berman *et al.*, 1985; Berman, 1988b e 1997). Observaram-se diferenças no comportamento da droga *in vitro* e *in vivo*. Isso sugere que um dos mecanismos para o composto exercer sua atividade leishmanicida seja a conversão metabólica intramacrofágica, que culmina com a redução de Sb^{+5} para Sb^{+3} (Serenio e Lemesre, 1997). A via de administração é a parenteral, por onde a droga alcança picos sanguíneos dentro de uma hora, com concentrações plasmáticas elevadas. A via intramuscular (IM) resulta em níveis levemente menores e um pouco mais tardios que a via endovenosa (EV) e, esta última, permite a aplicação de volumes maiores sem o inconveniente da dor local. Vale ressaltar que não existe diferença entre as vias EV e IM em relação à eficácia e à segurança da droga. Após administração endovenosa ou intramuscular, o antimoníato de metilglucamina é rapidamente absorvido, e praticamente 90% do antimônio é excretado na urina nas primeiras 48 horas (Limongi, 1973). Por este motivo, são usadas altas doses do fármaco desde o início de sua indicação para o tratamento das leishmanioses, a fim de garantir elevada concentração nos tecidos e obter a eficácia do tratamento. Injeções repetidas do antimonial pentavalente levam ao aumento progressivo na retenção do antimônio, que será parcialmente reduzido a antimônio trivalente.

O tratamento é longo, às vezes doloroso e potencialmente tóxico. A atual recomendação é que se utilize o antimoníato de N-metilglucamina (Glucantime®) na posologia de 20 mg/kg/dia de antimônio pentavalente (Sb^{+5}), de preferência em ambiente hospitalar, durante 30 dias seguidos (Berman, 1988a; Marzochi, 1992; Brasil, 2010). A aplicação deve ser lenta (duração mínima de 5 minutos), com agulha fina e sem necessidade de diluição e, após a infusão, o paciente deve permanecer em repouso. Caso não aconteça a cicatrização completa após o término do tratamento, o esquema poderá ser repetido apenas uma vez. Em caso de não resposta, deve-se utilizar uma das drogas de segunda escolha (Brasil, 2010).

Apesar de serem as drogas de primeira linha para o tratamento da LM, os antimoniais pentavalentes estão longe da droga ideal, pois apresentam

resposta terapêutica variada, com consideráveis índices de falha, de recorrência e de efeitos colaterais. A retenção do antimônio nos tecidos é responsável pelos efeitos tóxicos. Grande parte do que foi retido fica concentrada no fígado e no baço, e não se tem conhecimento da quantidade de antimônio que fica concentrada na pele e na mucosa. Os efeitos colaterais variam desde sintomas leves até os que obrigam a suspensão do tratamento. Podem ocorrer: dor no local da aplicação - quando a via for intramuscular -, artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastria, pirose, dor abdominal, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitação, insônia, nervosismo, choque pirogênico e edema (Brasil, 2010). Os sintomas mais importantes referem-se às alterações eletrocardiográficas, aumento de enzimas hepáticas, pancreatite e insuficiência renal (Marsden, 1985). As alterações no aparelho cardiovascular são dose e tempo-dependentes e, quando ocorrem, são visualizados, principalmente, inversão e achatamento de onda T, aumento do intervalo QT, inversão do segmento ST, extra-sístoles bigeminadas, polimorfias ou polifocais. Deve-se, portanto, realizar cuidadosa ausculta cardíaca diária até o término da medicação e, semanalmente, eletrocardiograma, além de hemograma e exame bioquímico do sangue para avaliação das funções renal (ureia e creatinina), pancreática (amilase e lipase) e hepática (transaminases, bilirrubinas e fosfatase alcalina), a fim de orientar a necessidade de redução da dose ou de suspensão do tratamento.

Esta droga não deve ser administrada em gestantes, e há restrições do uso dos antimoniais em pacientes com idade acima dos 50 anos, portadores de cardiopatias, nefropatias, hepatopatias e doença de Chagas (Brasil, 2010).

3.5.2 Pentamidina

A pentamidina é uma diamidina aromática, e seu mecanismo de ação decorre provavelmente da interferência sobre a síntese do DNA das leishmanias. Um estudo através de microscopia eletrônica utilizando *Leishmania* isolada de um doente, antes e após o tratamento com a

pentamidina, demonstrou alterações morfológicas do cinetoplasto - que se transformou em uma rede filamentosa - e das mitocôndrias, com fragmentação de sua membrana mitocondrial e aumento volumétrico, além da diminuição dos grânulos ribossomais (Hentzer e Kobayasi, 1977; Webster, 1986). Devido ao medicamento ter ação no metabolismo da glicose, pode haver hipoglicemia seguida de hiperglicemia quando do seu uso. O mecanismo dessa resposta bifásica ainda não está esclarecido, podendo ocorrer indução de citólise das células beta do pâncreas. São comercializadas para uso em humanos nas formulações Isotionato (Di-B-Hidroxietano-Sulfonato) e Mesilato (Di-B-Hidroximetil-Sulfonato), sendo que, no Brasil, apenas o primeiro é comercializado, e apresenta menos efeitos adversos. O isotionato de pentamidina tem a fórmula molecular $C_{19}H_{24}N_4O_2$ e peso de 340.42 g/mol (Figura 6).

FONTE: Rath *et al.*, 2003

Figura 6- Fórmula estrutural do isotionato de pentamidina

Apresenta-se em frasco-ampola contendo 300 mg do sal, que deve ser diluído em 3 ml de água destilada para uso clínico em aplicações intramusculares profundas. Poucos estudos foram realizados nas Américas utilizando a pentamidina como terapêutica da LTA. A dose preconizada atualmente pelo Ministério da Saúde para o tratamento da LM é de 4 mg/kg, em dias alternados, e recomenda-se não ultrapassar a dose total de 2 g em 10 doses. Amato (1997) utilizou o isotionato de pentamidina no tratamento de dezessete pacientes com LM, com sucesso terapêutico em dezesseis, e a dose necessária para cicatrização das lesões variou de 2025 a 4320 mg.

Os efeitos colaterais podem ser dor e/ou enduração local, náuseas, vômitos, tonturas, hipotensão, adinamia, mialgias, cefaléia, lipotimias, síncope,

alterações cardiológicas (principalmente alterações na onda T e no segmento ST), hipoglicemia seguido de hiperglicemia, alteração de enzimas pancreáticas, leucopenia, plaquetopenia e alteração da função renal (Markle e Makhoul, 2004). O principal e mais importante efeito é o desenvolvimento do diabetes *mellitus*, que pode se manifestar a partir da administração da dose total de 1 g, parecendo ser cumulativo e dose dependente. Dessa forma, recomenda-se a dosagem da glicemia e a realização de exames bioquímicos para a avaliação das funções renal (uréia e creatinina) e hepática (transaminases, bilirrubinas e fosfatase alcalina) no curso do tratamento e, quando a dose total de pentamidina ultrapassar 1 g, o paciente deve ser acompanhado mensalmente durante um período de seis meses. Essa medicação é contraindicada para gestantes, portadores de diabetes, insuficiência renal, insuficiência hepática e doenças cardíacas (Brasil, 2010).

3.5.3 Anfotericina B Desoxicolato

A anfotericina B é um antibiótico antifúngico, macrocíclico, polieno, produzido a partir de uma cepa de *Streptomyces nodosus*. Possui um amplo espectro de ação, contra fungos, protozoários e algas, mas não tem atuação sobre bactérias e vírus. Tem a fórmula molecular $C_{47}H_{73}NO_{17}$ e peso molecular de 924,08 g/mol (Figura 7).

FONTE: Rath *et al.*, 2003

Figura 7- Fórmula estrutural da Anfotericina B

Os primeiros relatos da eficiência da anfotericina B no tratamento da LTA foram de Lacaz e Sampaio, no início da década de sessenta (Sampaio *et al.*, 1960). Posteriormente, outros estudos analisaram a utilização da anfotericina B no tratamento da LM, tais como os de Furtado *et al.* (1961), Castro (1972), e Singer *et al.* (1975), demonstrando que esta droga produz pequeno número de recidivas e melhor ação sobre as lesões mucosas em comparação aos antimoniais.

A anfotericina B desoxicolato é considerada como droga de primeira escolha no tratamento de gestantes e de segunda escolha em não gestantes, quando não se obtém resposta ao tratamento com o antimonial pentavalente ou na impossibilidade de seu uso (Brasil, 2010). É leishmanicida e atua seletivamente nos ésteres (episterol precursor do ergosterol) da membrana citoplasmática da *Leishmania*, alterando sua permeabilidade (Berman, 1997). Atua nas formas promastigotas *in vitro* e nas formas amastigotas *in vivo*. Formulada em suspensão coloidal e comercializada em frasco-ampolas com 50 mg, o pó precisa ser reconstituído em 10 ml de água destilada, e cada 1 mg (0,2 ml) desta solução deve ser rediluída em 10 ml de soro glicosado a 5%. A dose recomendada pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2010) é de 1 mg/kg/dia diariamente ou em dias alternados, não deve ultrapassar 50 mg por aplicação e visa a atingir uma dose acumulada de 2,5 a 3 g. O tempo de infusão recomendado é de 2 a 6 horas. Os principais efeitos adversos são: febre, náuseas, vômitos, flebite no local da aplicação, anorexia, tremores, calafrios, cianose, insuficiência renal, hipopotassemia, hipomagnesemia, anemia, leucopenia e alterações cardíacas. Alguns desses efeitos podem ser atenuados ou evitados usando-se antieméticos, reposição de potássio e hidrocortisona 50 a 100 mg acrescentados ao soro, e durante o tratamento, recomenda-se o monitoramento da função renal e do potássio e magnésio séricos. Em caso de piora da função renal, em que os níveis de creatinina sobem duas vezes acima do maior valor de referência, o tratamento deverá ser suspenso por dois a cinco dias e reiniciado em dias alternados quando os valores da creatinina começarem a reduzir. A droga está contraindicada em pacientes portadores de cardiopatias, hepatopatias e, especialmente, nefropatias (Brasil, 2010).

Devido às dificuldades técnicas de aplicação, ou seja, uso unicamente endovenoso, e à sua toxicidade, a anfotericina B tem seu uso limitado no contexto de Saúde Pública, o que a impede de se tornar a droga de primeira escolha no tratamento, apesar de produzir pequeno número de recidivas e de apresentar melhor ação sobre as lesões mucosas em comparação aos antimonialis (Furtado *et al.*, 1961; Castro, 1972; Singer *et al.*, 1975).

3.5.4 Anfotericina B Lipossomal

Na leishmaniose tegumentar americana, as formulações lipídicas têm sido usadas esporadicamente, tanto nas formas cutâneas quanto nas mucosas, seja em pacientes imunocompetentes ou com alguma forma de imunossupressão, inclusive os indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (Amato *et al.*, 2004). Nos casos de leishmaniose tegumentar, em que todas as demais opções terapêuticas tenham sido utilizadas sem sucesso ou apresentem contraindicação, experiências relatadas na literatura recomendam o uso da anfotericina B lipossomal (AFBL) (Nonata *et al.*, 1997; Amato *et al.*, 2000a, 2004, 2007a). Apesar disso, só há registro dessa droga na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para o tratamento da leishmaniose visceral, uma vez que ainda não existem ensaios clínicos controlados que respaldem seu uso na leishmaniose tegumentar. No entanto, o uso *off label* de qualquer medicamento pode ser realizado por conta e risco do médico que o prescreve (Registro de Medicamentos, 2005).

Formulações lipídicas da anfotericina B foram desenvolvidas na tentativa de melhorar sua eficácia e tolerabilidade, especialmente no que tange à toxicidade renal (Martino, 2004). A AFBL trata-se de uma nova formulação em que a anfotericina B é incorporada dentro de lipossomas feitos com fosfatidilcolina hidrogenada de soja, colesterol e diestearoilfosfatidilglicerol, na razão molar de 2:1:0,8:0,4; em que a concentração de anfotericina B é de 10 mol% (Wong-Beringer *et al.*, 1998). Os lipossomas são vesículas esféricas, fechadas, que se arranjam em membranas duplas únicas quando expostas e

homogeneizadas em soluções aquosas. A anfotericina B se liga à membrana, em um complexo de cargas com o diestearoilfosfatidilglicerol, em lipossomas esféricos geralmente de 45 a 80 nm de tamanho, com um núcleo aquoso (Figura 8) (Adler-Moore e Proffitt, 1993 e 1998).

FONTE: Rev Ciênc Med. Campinas, 2005 mar/abr; 14 (2):187-97

Figura 8- Desenho representativo da estrutura da AFBL

O pequeno tamanho do lipossoma (<100 nm), a força da associação fármaco-lipossoma, a estabilidade das vesículas e a falta de afinidade das mesmas pelo colesterol das células dos mamíferos fazem com que a molécula permaneça mais tempo na circulação, atingindo níveis plasmáticos mais elevados que o desoxicolato de anfotericina B, e também favorecem uma ampla distribuição e penetração nos tecidos (Wong-Beringer *et al.*, 1998; WHO, 2005). A droga é então sequestrada pelos macrófagos no fígado e no baço, e seus níveis sobem progressivamente, até atingirem elevadas concentrações (Alvin, 1983). A concentração da AFBL é maior nas células do sistema fagocítico, principalmente no interior de macrófagos, o que aumenta a concentração da droga nos tecidos infectados (Alving, 1983). Este é um importante benefício da anfotericina B lipossomal, uma vez que os parasitas de *Leishmania* estão frequentemente no interior de macrófagos do hospedeiro. Em avaliações de tecidos após autópsia, a concentração de anfotericina B foi

maior no fígado e no baço, e menos de 1% da dose foi recuperada em outros órgãos como rim, coração e pulmão (Hillery, 1997). Entretanto, as vias metabólicas após sua administração ainda não são conhecidas. Os lipossomas diminuem a interação da droga com a membrana celular dos mamíferos, tornando a droga mais seletiva para a lise da membrana celular de fungos e de parasitas, visto que se liga preferencialmente ao esterol do que ao colesterol, o que confere menor toxicidade (Martino, 2004; WHO, 2005). Com esta formulação, a afinidade pelo componente ergosterol da membrana celular chega a ser 10 vezes maior do que pelo colesterol.

Comercializada em frasco-ampolas com 50 mg de anfotericina B lipossomal liofilizada, o pó precisa ser reconstituído em 12 ml de água destilada, e cada 4 mg (1ml) desta solução deve ser rediluída em 19 ml de soro glicosado a 5%. Esta solução pode ser armazenada por até 24 horas à temperatura de 2 a 8°C, caso contrário, a infusão deve ser iniciada em, no máximo, seis horas após a diluição na solução glicosada. O Ministério da Saúde recomenda a dose de 1 a 4 mg/kg/dia, sem dose máxima diária, e tempo de infusão entre 30 a 60 minutos, até alcançar a dose final total de 2,5 a 3 g (Brasil, 2010), enquanto a OMS sugere 2 a 3 mg/kg/dia e uma dose final acumulada de 40 a 60 mg/kg (WHO, 2010). Seu uso tem demonstrado eficácia similar à anfotericina B desoxicolato convencional e menos efeitos tóxicos do que esta, apesar de um regime de dose ideal ainda não estar definido (Nonata *et al.*, 1997; Sampaio; Marsden, 1997; Amato *et al.*, 2000a, 2011; Rocio *et al.*, 2014). Não foi ainda descrito nenhum caso de resistência primária à anfotericina (Amato *et al.*, 2008), apenas um caso relacionado à *L. infantum* - que não é associada à LM - apresentou resistência à droga, entretanto, o paciente havia feito múltiplos tratamentos prévios com anfotericina devido a recaídas da doença (Di Giorgio *et al.*, 1999). O maior obstáculo à implementação da AFBL na Saúde Pública é o seu alto custo.

Os principais efeitos adversos relacionados à infusão são: febre, tremor, calafrio, rigidez, flebite, dorsalgia, náuseas e vômitos, podendo ocorrer instabilidade hemodinâmica (Wingard *et al.*, 2000; WHO, 2010). Nefrotoxicidade e trombocitopenia transitória são ocasionalmente vistos (WHO, 2010). Recomenda-se o monitoramento da função renal, do potássio e do

magnésio séricos. Em caso de piora da função renal, quando os níveis de creatinina sobem duas vezes acima do maior valor de referência, o tratamento deverá ser suspenso por dois a cinco dias e reiniciado em dias alternados, quando os valores da creatinina começarem a reduzir. Em relação à anfotericina B desoxicolato, no entanto, a formulação lipossomal demonstrou redução em mais de 50 % nas complicações relacionadas (Amato *et al.*, 2007a, 2008), mas, apesar das vantagens, não há estudos que comparem diretamente as duas formulações entre si (Adler-Moore e Proffitt, 2002). A AFBL está contraindicada em pacientes com hipersensibilidade conhecida ao desoxicolato de anfotericina B ou a qualquer outro constituinte do produto, a não ser que, na opinião do médico, o benefício da terapia seja maior que os riscos. Não se sabe se a AFBL é excretada no leite humano, e é considerada na gestação categoria B pelo U.S. Food and Drug Administration (FDA).

É atualmente o medicamento de primeira linha preferido para o tratamento da leishmaniose visceral (WHO, 2005), sendo utilizado com sucesso para esse fim em diversos países (Sundar *et al.*, 2004 e 2011; Bern *et al.*, 2006). Vários relatos de casos referentes ao uso de formulações lipossomais tem sido descritos na literatura para o tratamento das formas cutâneas e mucosas com frequente sucesso (Amato *et al.*, 2004, 2007a, 2011; Solomon *et al.*; 2007, 2013; Wortmann *et al.*, 2010), segurança e menor recorrência em relação aos antimoniais pentavalentes (Solomon *et al.*, 2007), entretanto, ainda é muito limitado na literatura o relato de experiências com o uso da anfotericina B lipossomal em pacientes apenas com LM. (Sampaio; Marsden, 1997; Nonata *et al.*, 1997; Amato *et al.*, 2000a, 2009, 2011, Abbas *et al.*, 2009; Murray, 2012; Rocio *et al.*, 2014).

3.5.5 Outras Drogas

Diversas outras medicações já foram ou ainda são utilizadas para o tratamento da LM como alternativas para casos refratários ou que apresentem alguma contraindicação aos esquemas tradicionais, entre elas, o sulfato de aminosidina, o itraconazol e as formulações lipídicas de anfotericina B. As duas primeiras são consideradas drogas de terceira linha com taxas de sucesso frequentemente inferiores a 67% (Amato *et al.*, 2007b).

A aminosidina (gabromicina) é um aminoglicosídeo licenciado na Europa, de uso parenteral, para o tratamento de doenças bacterianas, similar à paramomicina, com boa atividade parasitária (bloqueio da síntese proteica). Pode ser utilizada como monoterapia ou em combinação com o antimonial pentavalente no combate à leishmaniose visceral. A dose utilizada é de 15 mg/kg/dia, de 12/12 horas, aplicados por via intramuscular ou endovenosa por um período de 14 a 20 dias. Não se tem visto boa resposta no tratamento da forma cutânea, e a nefrotoxicidade e a ototoxicidade são efeitos adversos graves relatados com seu uso (Romero *et al.*, 1996).

O Itraconazol, assim como outros derivados do imidazol, altera a permeabilidade da membrana celular ao inibir, especificamente, a síntese de ergosterol, interagindo com a 14- α -demetilase, uma enzima do citocromo P450 CYP51A1, que é necessária para a conversão do lanosterol em ergosterol. Alterações na ultraestrutura geral e na fisiologia mitocondrial de *Leishmania*, provavelmente, são responsáveis por desencadear os três fenótipos de morte celular: a apoptose, a necrose e a autofagia (de Macedo-Silva *et al.*, 2013). Inicialmente havia apenas relatos de casos de testes *in vitro* com resultados não satisfatórios (Albanese *et al.*, 1989; Akuffo *et al.*, 1990; Gangneux *et al.*, 1999). Posteriormente, os testes clínicos mostraram-se promissores para esta droga e com poucos efeitos adversos, passando esta, então, a ser usada como um último recurso para os casos recidivantes de LC e de LM (Amato *et al.*, 2000b, 2009; Consigli *et al.*, 2006; Baroni *et al.*, 2009). A droga apresenta excelente biodisponibilidade quando administrada por via oral, especialmente se ingerida com alimentos e, por ser lipofílica, atinge melhores concentrações

teciduais do que outros imidazóis, inclusive na pele e em mucosas, com uma razão tecido:sangue de até 3:1 (Larosa *et al.*, 1986). Presume-se que a droga alcance a pele e mucosas através das glândulas sebáceas e que continue em concentrações ativas nestes tecidos por até 2 semanas (Dogra *et al.*, 1996). A dose utilizada na prática clínica é de 4 mg/kg/dia por 6 semanas, entretanto, ainda não existem estudos suficientes para apoiar o uso exclusivo do itraconazol e para que ela seja definitivamente adicionada ao arsenal terapêutico atual.

O uso da anfotericina B, desde a sua introdução na prática clínica, é limitado por efeitos colaterais como a nefrotoxicidade e efeitos adversos relacionados à infusão. Formulações lipídicas têm sido desenvolvidas visando reduzir a toxicidade. Três destas formulações lipídicas estão comercialmente disponíveis: a anfotericina B lipossomal (AmBisome®), como descrita no item 3.5.4, a anfotericina B dispersão coloidal (Amphocil®) e o complexo lipídico de anfotericina B (Abelcet®). A principal diferença entre elas consiste no tipo do fosfolipídio utilizado e na razão fosfolipídio:anfotericina B, que podem ser fatores importantes para a ação destrutiva de patógenos e para a toxicidade da droga (Joly *et al.*, 1992).

A anfotericina B dispersão coloidal (ABDC) é um complexo estável de anfotericina B com o colesterilsulfato de sódio, um metabólito natural do colesterol, em uma razão aproximadamente equimolar para formar micropartículas discóides uniformes que variam de 75 a 170 nm de diâmetro, em que a concentração de anfotericina B no complexo todo é de 50 mol% (Wong-Beringer *et al.*, 1998). A anfotericina B complexo lipídico (ABCL) é composta por estruturas em forma de fita e consiste na molécula de anfotericina complexada a dois fosfolipídios, na proporção 7:3:10, sendo de 33 mol% a concentração da anfotericina B. Os dois fosfolipídios são o L- α -dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) e o L- α -dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), que estão presentes na razão molar de 7:3 (Figura 9) (Wong-Beringer *et al.*, 1998).

FONTE: Rev Ciênc Med. Campinas, 2005 ma/abr; 14(2): 187-97

Figura 9- Desenho representativo da estrutura de ABDC (A) e de ABCL (B)

As formulações lipídicas expostas apresentam diferenças notáveis em sua farmacocinética plasmática, já que as partículas maiores sofrem um clareamento sanguíneo mais rápido, e na sua distribuição tecidual. Estas diferenças podem ser atribuídas à diversidade físico-química das porções lipídicas, ao passo que o comportamento farmacocinético da fração de anfotericina B liberada é independente da formulação administrada (Boswell *et al.*, 1998; Bellmann *et al.*, 2003). Vários estudos demonstraram eficácia clínica semelhante entre as três formulações (Nonata *et al.*, 1997; Fleming *et al.*, 2001; Amato *et al.*, 2007a), porém o significado clínico dessas diferenças ainda permanece incerto, já que não há nenhum estudo em humanos que compare as três drogas entre si (Janknegt *et al.*, 1992; Hiemenz *et al.*, 1996). A contradição flagrante entre equivalência clínica e diversidade farmacocinética tem estimulado debates sobre se, de fato, isso poderia gerar diferentes respostas no tratamento da leishmaniose. Além disso, as equivalências de doses entre as formulações lipídicas ainda não foram estabelecidas para a LM, portanto, mais estudos tornam-se necessários (Wong-Beringer *et al.*, 1998; Vogelsinger *et al.*, 2006).

Alguns esquemas alternativos tem sido propostos, como os antimoniais pentavalentes em doses baixas, elevadas, ou por via intralesional; a associação do antimonial pentavalente com pentoxifilina, ou o antimonialpentavalente com alopurinol; o antimonial pentavalente com sulfato de aminosidina; o antimonial pentavalente com a paramomicina e o antimonial

pentavalente com imunoterápicos (IFN- γ ou GMC-SF ou Leishvacin® e alopurinol) (Sampaio; Marsden, 1997; Romero *et al.*, 1996; Falcof *et al.*, 1994; Zaraa 2011; de Moraes-Teixeira *et al.*, 2015). Embora tais indicações façam sentido, não foram documentadas por ensaios clínicos controlados que possam respaldar sua aprovação para casos de LM.

Como novas perspectivas no tratamento da LTA, a miltefosina parece ter um futuro promissor (Soto *et al.*, 2009). Foi a primeira droga de uso oral utilizada no tratamento da leishmaniose visceral. Uma droga anticâncer alquilfosfolípida, cujos mecanismos de ação contra a *Leishmania* ainda não são bem entendidos. Sabe-se que essa droga é capaz de bloquear a síntese e alterar a composição da membrana do parasita, e leva a poucos efeitos adversos, tais como vômito e diarreia. São necessários, entretanto, maiores estudos com essa medicação a fim de verificar sua eficiência em relação às espécies de *Leishmania* existentes no Brasil, além do fato de que esta droga ainda não faz parte do arsenal de medicamentos disponibilizados pelo Governo Brasileiro (Tuon; Amato, 2007).

3.5.6 Controle do tratamento

Após a cura clínica, a IDRM pode permanecer positiva durante vários anos sendo, portanto, de limitado valor para o diagnóstico da reativação. Mesmo que ocorra um declínio nos títulos de anticorpos após meses ou anos do tratamento (Brasil, 2010), alguns estudos demonstram a falta de correlação desses títulos com o estado clínico do paciente (Oliveira *et al.*, 1995), não sendo confiável o uso da técnica sorológica no acompanhamento pós tratamento do doente na LM, nem como critério isolado de cura, nem como de previsão da recorrência. Em relação à análise histopatológica da lesão cicatrizada clinicamente, podem existir alterações inflamatórias, mesmo muitos anos após o tratamento, fato demonstrado tanto na forma cutânea quanto na LM (Botelho *et al.*, 1998; Amato *et al.*, 1998a). Além da persistência da inflamação, o encontro do parasita viável na forma cutânea da LTA - recuperado através de cultura, ou a persistência da positividade da PCR e de

antígenos de *Leishmania* - após o tratamento da LM corrobora a hipótese da persistência do parasita, semelhante à forma visceral da Leishmaniose (Schubach *et al.*, 1998; Pirmez *et al.*, 1998 e 2000).

Diante do exposto, atualmente, o critério mais adequado para o seguimento dos pacientes com LM é o acompanhamento clínico, fato já referido na literatura, sempre com auxílio de um otorrinolaringologista experiente, com eventual biópsia da mucosa para avaliação da atividade inflamatória (Pirmez *et al.*, 2000; Amato, 1997; Amato *et al.*, 2003a, 2003b). A presença ou ausência de lesões tegumentares em atividade é o critério decisivo para afirmar se houve cura ou recidiva (Brasil, 2010).

4. Métodos

4.1 Casuística

Trata-se de um estudo composto tanto de um grupo retrospectivo quanto de um grupo prospectivo. Foram avaliados os prontuários de todos os pacientes do Ambulatório de Leishmanioses do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC- FMUSP) com diagnóstico confirmado de leishmaniose mucosa no período de janeiro de 2000 a novembro de 2013, assim como seguiram-se, ao longo de pelo menos um ano, os pacientes tratados de dezembro de 2013 a julho de 2015.

Todos os pacientes, tanto do grupo retrospectivo quanto do grupo prospectivo, foram submetidos aos mesmos critérios de inclusão e de exclusão, receberam as doses dos medicamentos preconizadas dentro do mesmo intervalo sugerido pelo Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar do Ministério da Saúde e tiveram seguimento mínimo de seis meses após completarem o tratamento (Brasil, 2010).

4.2 Aspectos Éticos

O projeto teve a aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq, protocolo nº 0576/11, data da sessão: 17/08/2011 (Anexo A), assim como seus respectivos adendos (Anexos B e C). Os pacientes tratados a partir de dezembro de 2013 assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo D), onde foram incluídas as devidas explicações e orientações acerca do estudo; utilizou-se linguagem adequada à compreensão dos pacientes e de seus acompanhantes. Aos pacientes do grupo retrospectivo, quando não foi possível contactá-los, estiveram garantidos o total sigilo e a confidencialidade das informações obtidas dos prontuários em relação às suas respectivas identidades.

4.3 Diagnóstico

Para o referido diagnóstico de LM foram considerados aspectos clínicos e epidemiológicos, o exame físico (incluindo o otorrinolaringológico), a reação intradérmica de Montenegro, sorologias, como a RIFI e o ELISA, e a biópsia da mucosa acometida. O teste de Montenegro foi considerado positivo quando maior ou igual a 5mm. Foram considerados positivos soros com título $\geq 1:32$ pela RIFI. Em relação ao ensaio imunoenzimático, foram considerados positivos soros com título $\geq 1:40$. Outros exames foram realizados a fim de excluir os principais diagnósticos diferenciais, tais como o teste tuberculínico ou PPD, VDRL, provas reumatológicas e sorologias para fungos (Paracoccidioides, Aspergillus e Histoplasma). Os exames otorrinolaringológicos foram efetuados no Departamento de Otorrinolaringologia do HC-FMUSP, através de rinoscopia anterior e posterior, com avaliação da cavidade oral e, quando necessário, nasofibroscopia. Pacientes que apresentaram uma ou mais áreas de hiperemia, de edema, ou de erosão, associados a aspecto granulomatoso, no palato, mucosa nasal, faríngea ou laríngea foram classificados como apresentando a forma ativa da doença. O diagnóstico definitivo foi confirmado por meio de uma biópsia de mucosa conclusiva, ou seja, acometida com a presença de *Leishmania*, demonstrada por meio da reação de imunohistoquímica, do DNA do parasita pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), ou da coloração de Giemsa, que evidencia as formas amastigotas (Amato *et al.*, 2003a). Aqueles pacientes que apresentaram biópsia com alterações histológicas sugestivas (reação inflamatória crônica inespecífica e/ou processo inflamatório crônico granulomatoso) tiveram o diagnóstico confirmado com o auxílio dos critérios clínicos (lesão cutânea prévia, epidemiologia, nasofibroscopia com lesão mucosa típica) e laboratoriais (reação intradérmica de Montenegro positiva, imunofluorescência ou ELISA positivos). As colorações de Grocott e Ziehl-Nielsen também foram avaliadas nessas biópsias para exclusão de doenças fúngicas e de infecção por micobactéria. A imuno-histoquímica para detecção de antígenos de *Leishmania* foi realizada pelo Laboratório Central do HC-

FMUSP e/ou pelo Laboratório da Disciplina de Patologia de Moléstias Transmissíveis do Departamento de Patologia da FMUSP, e a PCR foi realizada pelo Laboratório de Investigação Médica-46 (LIM-46) da FMUSP. Os pacientes do grupo prospectivo foram incluídos neste estudo e tiveram seu seguimento iniciado somente após a confirmação do diagnóstico de LM.

4.4 Critérios de Inclusão e de Exclusão

Os pacientes com lesão em mucosa e biópsia conclusiva, ou uma biópsia sugestiva de LM associada aos critérios clínicos e laboratoriais e que receberam tratamento com antimoniato N-metilglucamina, isotionato de pentamidina, itraconazol, ou alguma formulação contendo anfotericina B, no período compreendido entre janeiro de 2000 e novembro de 2013, foram incluídos no estudo. Os pacientes atendidos no Ambulatório de Leishmanioses do HC-FMUSP entre dezembro 2013 e julho de 2015 com diagnóstico confirmado de LM também foram incluídos. Foram excluídos deste estudo os pacientes com doenças imunossupressoras e/ou em uso de medicamentos imunossupressores.

4.5 Terapêutica Utilizada

Os pacientes selecionados receberam o tratamento no Ambulatório de Leishmanioses do DMIP do HC-FMUSP quando a via da medicação era oral, ou em regime de internação hospitalar, na Enfermaria de Moléstias Infecciosas do HC-FMUSP, quando a via da medicação era parenteral. Alguns pacientes completaram seus tratamentos no hospital-dia do referido hospital a critério da equipe médica, quando assim achou possível e conveniente fazê-lo. Para a escolha do medicamento, foram respeitadas todas as contraindicações às drogas mais usadas para o tratamento de LM.

Tanto os pacientes do grupo retrospectivo quanto os pacientes do grupo com segmento prospectivo, após a confirmação do diagnóstico de LM, foram tratados de acordo com o protocolo estabelecido pelo Ambulatório de Leishmanioses - baseado nas orientações do Ministério da Saúde - e com a aprovação da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do HC-FMUSP (Levin *et al.*, 2011), em que a droga de primeira escolha é o antimoniato de N-metilglucamina na dose de 20 mg/Sb⁺⁵/kg/dia (dose máxima de 1200 mg/dia) por via intramuscular em ambiente domiciliar, ou endovenosa em ambiente hospitalar durante 30 dias seguidos. Os pacientes que apresentaram reações adversas ou história de arritmia, alteração eletrocardiográfica, idade superior a 50 anos ou insuficiência renal, foram tratados com isotionato de pentamidina por via endovenosa, na posologia de 4 mg/kg (total de 10 aplicações), em dias alternados em ambiente hospitalar, com dose máxima acumulada de 2 a 4 g. Aqueles pacientes que apresentaram reações adversas ao uso de isotionato de pentamidina ou história de diabetes, receberam tratamento com anfotericina B desoxicolato na posologia de 1 mg/kg, com dose máxima de 50 mg/dia, em infusão endovenosa em ambiente hospitalar. Para os pacientes que apresentaram reações adversas ou contraindicações ao tratamento com anfotericina B desoxicolato, as alternativas terapêuticas utilizadas foram anfotericina B complexo lipídico na posologia de 1 a 4 mg/kg/dia, com objetivo de dose acumulada de 2500 a 3000 mg, em infusão endovenosa em ambiente hospitalar ou anfotericina B lipossomal na posologia de 1 a 4 mg/kg/dia, com objetivo de atingir uma dose acumulada de 2500 a 3000 mg, em infusão endovenosa em ambiente hospitalar. Para os casos que apresentaram reações adversas ou contraindicações às drogas acima mencionadas, optou-se pelo tratamento com itraconazol na posologia de 200 mg/dia por seis semanas, por via oral em regime ambulatorial. Todos os pacientes receberam um ou mais tratamentos.

Os pacientes, tanto do grupo tratado antes de dezembro de 2013, quanto do grupo tratado após essa data, foram conduzidos de acordo com as orientações estabelecidas pelo protocolo do Ambulatório de Leishmanioses. Ao receberem o tratamento com antimonial pentavalente, os pacientes deveriam realizar eletrocardiograma três vezes por semana, com cuidadosa ausculta

cardíaca diária, e exames bioquímicos duas vezes na semana. Pacientes que recebessem a pentamidina deveriam realizar a análise de glicemia capilar antes, durante e ao final da infusão da droga, e a avaliação com exames bioquímicos duas vezes na semana. Caso a glicemia fosse detectada abaixo de 70 mg/dl o tratamento deveria ser suspenso. No caso de uso das formulações de anfotericina B, recomendou-se a dosagem de potássio, magnésio e avaliação da função renal (ureia e creatinina) três vezes na semana.

4.6 Dados Analisados

Foram analisados e/ou avaliados a epidemiologia e os achados clínicos de todos os pacientes, incluindo idade, sexo, raça, naturalidade, provável local de aquisição da doença, presença de lesão cutânea prévia, comorbidades como hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes *mellitus* (DM), tempo de evolução dos sintomas até o diagnóstico (menos que um ano, entre um e cinco anos, entre cinco e dez anos, e mais que dez anos), localização da lesão mucosa e sintomas (epistaxe, obstrução nasal, rinorreia, saída de crostas, prurido nasal, cacosmia, hiposmia, espirros, odinofagia, dor no local da lesão, cefaleia, rouquidão e disfonia). Foram descritos os resultados encontrados nos diferentes exames diagnósticos (IDRM, ELISA, RIFI), os achados do exame otorrinolaringológico e o número de sítios acometidos, assim como os achados em tomografia computadorizada (TC) de seios da face - quando realizada - tais como espessamento mucoso do seio, sinusopatia (velamento de seio) ou mastoidopatia. O número de sítios acometidos foi resultado da soma simples dos seguintes sítios: nasal (asa, mucosa da parede lateral e septo), palato, faringe, laringe, ou outro sítio (p.ex. lábio). Analisou-se, também, se o paciente recebeu tratamento prévio na internação vigente, ou no caso de tratamento ambulatorial, algum tratamento prévio que antecedeu em menos de 30 dias a droga atual.

Avaliou-se o uso do antimoniato N-metilglucamina (Glucantime®), do isotionato de pentamidina (Pentamidina®), do itraconazol, da anfotericina complexo lipídico (Amphocil®) e da anfotericina B desoxicolato, e descreveram-se os efeitos adversos e os desfechos encontrados, tais como as taxas de cicatrização, de falha, de recidiva e de interrupção. Os resultados encontrados foram comparados entre si e com os da anfotericina B lipossomal (Ambisome®).

Foram considerados efeitos adversos relacionados à infusão: febre, cefaleia, náuseas, vômitos (e outras alterações do trato gastrointestinal), tremores ou calafrios, sudorese, flebite no local da infusão, dor lombar, dor torácica, palpitação, mialgia, artralgia, astenia e erupções cutâneas. Os efeitos adversos sistêmicos avaliados foram: insuficiência renal aguda (IRA), alteração na função renal, distúrbio hidroeletrólítico, alteração nas enzimas hepáticas, alteração nas enzimas pancreáticas, mielotoxicidade, alterações eletrocardiográficas, hipoglicemia e diabetes *mellitus*. Considerou-se insuficiência renal aguda relacionada à droga quando a creatinina sérica do paciente dobrou em relação ao valor basal pré-tratamento, e disfunção renal quando o clearance de creatinina caiu abaixo de 60 ml/min (quando o valor basal fosse maior que este) e/ou apresentou queda maior ou igual a 30%. Alterações nas enzimas hepáticas e pancreáticas foram consideradas quando seus valores ultrapassaram três vezes o valor basal ou, na ausência de valor basal, quando ultrapassaram três vezes o limite da normalidade. Mielotoxicidade foi considerada quando a hemoglobina caiu 2 pontos em relação ao valor basal, leucócitos totais caíram abaixo de 3.000/mm³, e/ou as plaquetas caíram abaixo de 150.000/mm³. Foram observados, também, quais desses efeitos adversos foram responsáveis pela interrupção do tratamento vigente.

Analizou-se, ainda, o tempo de internação, o tempo de seguimento e a dose total utilizada no tratamento dos pacientes que receberam formulações lipídicas de anfotericina B, bem como suas respectivas médias. A partir destes dados, avaliou-se a dose de anfotericina B lipossomal com a qual se obteve a melhor taxa de cicatrização, comparando-a com os resultados vigentes na literatura.

Para a coleta dos dados dos pacientes foi usada a ficha apresentada em anexo (Anexo E).

4.7 Seguimento e Desfecho

Os pacientes após a alta foram seguidos no ambulatório de leishmanioses e de otorrinolaringologia do HC-FMUSP. A eficácia da droga foi definida através da regressão completa (cicatrização) das lesões da mucosa determinada por exame otorrinolaringológico com rinoscopia e/ou nasofibroscopia após seis meses do fim do tratamento (Brasil, 2010). Falha foi definida pela ausência de melhora da lesão após o tratamento completo ou recidiva da lesão antes de seis meses. As lesões que apresentaram melhora após o tratamento, porém sem regressão completa, também foram consideradas como falha. Por fim, foi considerado como recidiva o aparecimento de lesões ativas após seis meses do tratamento. O grupo com seguimento prospectivo foi acompanhado na Enfermaria de Moléstias Infecciosas ou em regime ambulatorial durante o tratamento, e, também, pelo menos por um ano após o final do mesmo. Os pacientes deste estudo que não apresentaram sucesso terapêutico - devido a falha ou a interrupção do tratamento por efeito adverso - e os casos de recidiva eram reavaliados posteriormente e recebiam proposta de um novo esquema de tratamento para LM, conforme o protocolo do Ambulatório de Leishmanioses já descrito nesse trabalho no item 4.5.

4.8 Análise Estatística

Foram utilizados métodos da estatística descritiva como frequência absoluta (n), frequência relativa (percentual), média e mediana para organizar e resumir os dados. A normalidade das variáveis quantitativas foi avaliada com o teste de Kolmogorov-Smirnov, e as variáveis quantitativas, com distribuição normal, foram apresentadas descritivamente em tabelas contendo média e desvio

padrão, enquanto as variáveis quantitativas sem distribuição normal foram apresentadas descritivamente em tabelas contendo mediana com intervalo interquartilico.

Foi utilizado o índice Kappa para verificar a concordância dos exames diagnósticos entre si. Os testes não paramétricos de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e o paramétrico t de Student foram usados para a avaliação da correlação entre as variáveis categóricas e as variáveis numéricas, e o teste t ficou reservado para os casos de variáveis com distribuição normal. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. A associação entre as variáveis categóricas foi avaliada por meio do teste qui-quadrado de Pearson, do teste da razão de verossimilhança ou do teste exato de Fisher. Para considerar a significância da associação foi usada a análise de resíduo ajustado ($>1,96$) e o valor p ($<0,05$). A intensidade da associação da droga e de algumas variáveis com os principais desfechos de tratamento foi descrita por meio do odds ratio (OR) - ou razão de chances - e do intervalo de confiança (IC) de 95%. A descrição detalhada de quais testes e índices estatísticos foram usados com suas respectivas variáveis está especificada no capítulo seguinte, em Resultados. Os cálculos foram processados com utilização do software SPSS versão 23.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois).

5. Resultados

5.1 Aspectos Clínicos e Epidemiológicos

Foi avaliado um total de 71 pacientes com leishmaniose mucosa, sendo 43 do sexo masculino e 28 do sexo feminino. A idade média ao realizar o diagnóstico de LM foi 57 anos (± 14). A mediana de idade ao iniciar determinado tratamento foi 63, com idade mínima de 22 anos e máxima de 89 anos. A maioria, 50% (35/70), tinha como procedência remota a região Nordeste e 59,2% (42/71) da amostra era constituída por caucasianos (Tabela 1).

A maioria dos pacientes, 80% (57/71), apresentava alguma comorbidade. A hipertensão arterial sistêmica esteve presente em 59,2% dos indivíduos (42/71), a dislipidemia em 16,9% (12/71) e o diabetes *mellitus* em 9,9% (7/71). O relato de lesão cutânea prévia ou a presença de cicatriz sugestiva de LC ao exame físico esteve presente em 81,3% (39/48) dos pacientes. Em relação à localização dessas lesões, 68,6% (24/35) dos pacientes apresentavam lesão em membro inferior e 25,7% (9/35) em membro superior (Tabela 1).

Tabela 1 – Características gerais dos pacientes com leishmaniose mucosa

Variável	Leishmaniose mucosa (n total= 71)	
Idade no diagnóstico (anos)		
Média	57 (±14)	
Sexo	n= 71	(%)
Feminino	28	39,4
Masculino	43	60,6
Região de aquisição da doença	n= 70	(%)
Nordeste	35	50,0%
Sudeste	22	31,4%
Sul	7	10,0%
Centro-oeste	5	7,1%
Norte	1	1,4%
Etnia	n= 71	(%)
Branco	42	59,2%
Negro	23	32,4%
Pardo	3	4,2%
Amarelo	3	4,2%
Comorbidade	n= 71	(%)
Hipertensão arterial	42	59,2%
Dislipidemia	12	16,9%
Diabetes mellitus	7	9,9%
Lesão cutânea prévia	n= 48	(%)
Sim	39	81,3%
Localização da lesão cutânea	n= 35	(%)
Membro inferior	24	68,6%
Membro superior	9	25,7%
Dorso	1	2,9%
Face	1	2,9%
Pênis	1	2,9%

Para todos pacientes com LM, neste estudo, houve relato de alguma sintomatologia. Os sintomas mais frequentes foram obstrução nasal, epistaxe e rinorréia. Em relação à localização das lesões, a mucosa da fossa nasal e o septo nasal foram as mais frequentes, seguidos do acometimento da faringe (rinofaringe, orofaringe ou hipofaringe) e do palato, que aparece como terceira topografia mais frequente para a doença. A maioria dos pacientes apresentava lesão de mucosa em um único sítio (Tabela 2).

Tabela 2 – Sintomas e localização das lesões mucosas

Sintomas ^a	n=70	%	Topografia da lesão ^b	n=71	%	Número total de sítios acometidos ^c	n=71	%
Obstrução nasal	51	72,9%	Mucosa nasal	57	80,3%	1	45	63,4%
Epistaxe	49	70,0%	Septo Nasal	54	76,1%	2	15	21,1%
Rinorréia	37	52,9%	Faringe	19	26,8%	3	8	11,3%
Crosta	28	40,0%	Palato	13	18,3%	4	3	4,2%
Prurido	19	27,1%	Laringe	9	12,7%			
Cacosmia	13	18,6%	Lábio	3	4,2%			
Dor	10	14,3%						
Odinofagia/disfagia	9	12,9%						
Hiposmia	7	10,0%						
Espirros	6	8,6%						

NOTAS: ^aOutros sintomas menos frequentes foram cefaleia (n=5), rouquidão (n=4), hipoacusia (n= 2) e disfonia (n=1). ^bUm paciente apresentou lesão em asa nasal. ^cNariz e cavidade nasal (incluindo asa nasal, mucosa da parede e septo nasais) foram considerados como um sítio único.

As principais alterações relatadas no exame otorrinolaringológico inicial de 69 pacientes, antes do tratamento, estão descritas na Tabela 3. Dos 29 pacientes que realizaram TC de seios da face, 25 (86,2%) demonstraram uma ou mais alterações, e 18 (62,1%) apresentaram espessamento mucoso em pelo menos algum seio da face (Tabela 3).

Tabela 3 – Principais achados no exame clínico otorrinolaringológico e no exame de imagem por método de Tomografia Computadorizada (TC) de seios da face

Rinoscopia e/ou nasofibroscopia (n total =69)	n	%
Perfuração septal	46	66,7%
Crostas	45	65,2%
Processo granulomatoso	40	58,0%
Estenose	15	21,7%
Edema	13	18,8%
Hiperemia	13	18,8%
Aspecto infiltrado	11	15,9%
Atrofia de mucosa	5	7,2%
Evidência de sangramento	4	5,8%
Secreção espessa	2	2,9%
TC de seios da face (n total= 29)	n	%
Espessamento mucoso do seio	18	62,1%
Sinusopatia	10	34,5%
Mastoidopatia	3	10,3%

Dos 71 pacientes avaliados, 50 apresentavam descrição ou relato do tempo de evolução dos sintomas até o momento do diagnóstico, sendo que 64% deles apresentavam 5 ou mais anos de sintomas até receberem o diagnóstico (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Duração do início dos sintomas até o diagnóstico de LM em 50 pacientes

5.2 Aspectos Laboratoriais

Em relação aos testes diagnósticos, 100% dos pacientes incluídos no estudo realizaram biópsia com colorações de Grocott e Ziehl-Nielsen para exclusão de doenças fúngicas e de infecção por micobactéria. Dos 71 pacientes, 67 (94,4%) apresentavam biópsia com características sugestivas de leishmaniose, e em apenas 4 casos (5,6%) a biópsia era sugestiva e também foram visualizadas formas amastigotas. Quando realizada a imuno-histoquímica (IH) nas biópsias, ela foi positiva em 33,3% (21/63) e a PCR em 78,6% (11/14) delas. O total de 51 pacientes realizou ao menos um teste sorológico para LM e 46 (90,2%) tiveram pelo menos um dos testes positivos. Destes 51 pacientes, 46 realizaram ELISA, sendo 89,1% dos testes positivos, e 44 realizaram RIFI, obtendo 61,4% de positividade. O teste de Montenegro foi positivo em 87,2% dos 47 pacientes que o realizaram, com mediana de 14 mm. (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados dos exames diagnósticos usados em LM

Exames Diagnósticos	n	%
ELISA	46	
Positividade	41	89,1%
RIFI	44	
Positividade	27	61,4%
Teste de Montenegro	47	
Positividade	41	87,2%
Mediana e intervalo interquartilico (mm)	14 [10 - 20]	
Biópsia	71	
Visualização de amastigotas ^a	4	5,6%
Sugestiva sem parasita	67	94,4%
Imuno-histoquímica (IH)	63	
Positividade	21	33,3%
PCR	14	
Positividade	11	78,6%

NOTA: ^aDois desses casos também apresentaram IH positiva.

Dos 71 pacientes desse estudo, 32 (45,1%) tiveram o diagnóstico de leishmaniose confirmado por meio de uma biópsia conclusiva, sendo 4 com visualização do parasita e 28 com IH e/ou PCR positivos, e 39 (54,9%) tiveram o diagnóstico confirmado por meio de uma biópsia sugestiva - associada a critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais -, sendo que 38 desses 39 avaliados tiveram pelo menos um teste diagnóstico laboratorial positivo para leishmaniose (ELISA, RIFI e/ou IDRM), e um desses apresentou o exame de imuno-histoquímica inconclusivo na biópsia.

Ao se analisarem todos os testes diagnósticos entre si (IDRM, ELISA, RIFI, IH, PCR), utilizando o índice de Kappa, observamos concordância estatisticamente significativa apenas entre os seguintes testes: IDRM e PCR ($p=0,008$), IDRM e ELISA ($p=0,007$) e entre o teste de ELISA e a RIFI ($p=0,016$). Entre os 7 testes de IDRM e os 7 testes da PCR que foram realizados em comum, houve alto grau de concordância - todos os resultados concordaram entre si 7/7 - ($Kappa=1,000$); entre a IDRM e o ELISA a concordância foi moderada, 24 entre os 27 testes realizados em comum ($Kappa=0,509$); e entre o ELISA e a RIFI, a concordância foi mais baixa, 26 em 39 testes em comum ($Kappa=0,258$).

Avaliou-se, ainda, se a idade, o sexo, a etnia, o número de sítios acometidos ou o tempo de evolução dos sintomas poderiam influenciar o resultado de algum teste diagnóstico em positivo ou negativo. A idade e o sexo não se mostraram diferentes entre os testes positivos e negativos de nenhum exame específico quando comparados por meio dos testes não paramétrico de Mann-Whitney e Fisher, respectivamente. Em relação à etnia, ao realizar o teste exato de Fisher, foram encontrados mais pacientes não caucasianos entre os testes de IH positivos do que entre os de IH negativos ($p=0,001$). Em relação ao número de sítios acometidos pela lesão, usou-se o teste de Mann-Whitney e apenas a RIFI mostrou significância estatística para os resultados positivos ($p=0,042$), sugerindo que os indivíduos com exames de RIFI positivos apresentavam mais sítios acometidos do que os negativos. O tempo de evolução dos sintomas foi categorizado em períodos, como exposto no gráfico 1, e não apresentou associação com nenhum resultado dos testes diagnósticos deste estudo quando aplicado o teste qui-quadrado de Pearson.

5.3 Tratamento

Foram avaliados 106 tratamentos para LM neste estudo, sendo 17 (16%) realizados a partir de dezembro de 2013. Destes, 13 pacientes foram tratados com AFBL, 3 com antimonial pentavalente e 1 com itraconazol. Quando aplicado o teste de Fisher, não foi demonstrada diferença significativa ($p > 0,05$) entre o número de recidivas do grupo tratado de janeiro de 2000 a novembro de 2013 e o do grupo tratado de dezembro de 2013 a julho de 2015. Ao total foram 32 tratamentos com AFBL, 25 com antimonial de N-metilglucamina, 14 com anfotericina B desoxicolato, 13 com ABCL e 11 com itraconazol.

Dos 71 pacientes avaliados, 31 (43,66%) receberam mais de um tratamento de LM ao longo da vida, sendo que, dos 106 tratamentos totais analisados nesse estudo, 53 (50%) foram antecedidos por algum outro tratamento. Destes, 20 tratamentos foram antecedidos pelo uso de alguma outra droga dentro do período de trinta dias (Tabela 5), estando o intervalo entre a droga anterior e o tratamento vigente entre 1 e 11 dias. Em 4 tratamentos, o intervalo esteve compreendido entre 2 meses e um ano, e em 29 tratamentos a droga anterior apresentava mais de um ano de intervalo do tratamento vigente.

Tabela 5 – Número de tratamentos prévios no último mês

Tratamento prévio no último mês							
	Anfotericina B lipossomal	Antimonial	Pentamidina	Anfotericina B desoxicolato	Anfotericina B complexo lipídico	Itraconazol	TOTAL
Sim	7	1	1	2	8	1	20
%	21,9%	4,0%	9,1%	14,3%	61,5%	9,1%	18,9%
TOTAL	32	25	11	14	13	11	106

Entre os 105 tratamentos analisados para LM, 79 (75,24%) pacientes desenvolveram algum efeito adverso. Em 45,87% (50/105) houve efeito adverso relacionado à infusão e/ou ingestão da medicação, e em 60% (63/105) houve efeito adverso sistêmico. A associação entre o uso de determinada

droga e a ocorrência de efeitos adversos gerais pode ser observada na Tabela 6. Todos os pacientes tratados com anfotericina B desoxicolato manifestaram efeito adverso, enquanto nenhum tratado com itraconazol manifestou qualquer efeito ($p < 0,01$). Quando comparamos a AFBL ao conjunto dos demais tratamentos, não houve diferença significativa em relação à ocorrência de efeitos adversos gerais (Tabela 6).

Tabela 6 – Ocorrência de efeitos adversos gerais no tratamento da LM

Efeitos Adversos								
	Anfotericina B lipossomal	Antimonial	Pentamidina	Anfotericina B desoxicolato	Anfotericina B complexo lipídico	Itraconazol	TOTAL	p
Sim	26	17	10	14	12	0	79	
%	83,9%	68,0%	90,9%	100%*	92,3%	0%*	75,2%	<0,01
RA ^a	1,3	-1,0	1,3	2,3	1,5	-6,1	(-)	
TOTAL	31	25	11	14	13	11	105	
	Anfotericina B lipossomal	Outras drogas					TOTAL	p
Sim	26	53					79	
%	83,9%	71,6%					75,2%	0,185
TOTAL	31	74					105	

NOTA: ^aRA: Resíduos ajustados.

*Valores que contribuíram para valor de $p < 0,01$. Teste Qui-quadrado de Pearson.

Os efeitos adversos mais frequentes encontrados em cada grupo de droga estão descritos nas Tabelas 7 e 8.

Em relação aos efeitos adversos relacionados à infusão, observou-se uma associação entre a ocorrência de flebite e de tremor com o grupo que recebeu anfotericina B complexo lipídico ($p < 0,05$), e maior desenvolvimento de calafrio no grupo que recebeu anfotericina B desoxicolato, e de artralgia no grupo que recebeu antimonial ($p < 0,05$) (Tabela 7). Outros efeitos adversos relacionados à infusão foram dor lombar, em 5 casos (4 casos com o uso de AFBL e 1 com ABCL); palpitação, em 5 casos (3 aconteceram com uso da AFBL, 1 com ABCL e 1 com antimonial); sudorese, em 3 casos (2 com uso de ABCL e 1 com AFBL); astenia, em 2 casos (1 com uso de pentamidina e outro

com uso do antimonial pentavalente); e com o uso do antimonial, 3 casos de outras alterações do trato gastro-intestinal e 1 caso de erupção cutânea. Nenhum destes últimos efeitos colaterais demonstrou associação com alguma droga específica. Na análise das formulações de anfotericina B, os efeitos adversos devido à infusão estiveram presentes em 50% (7/14) dos que receberam a anfotericina B desoxicolato, em 54,84% (17/31) dos pacientes que receberam AFBL e em 76,92% daqueles que receberam a ABCL.

Tabela 7 – Efeitos adversos relacionados à ingesta ou à infusão de medicamentos no tratamento da LM

	Flebite	Náusea/ Vômito	Febre	Cefaléia	Dor torácica	Tremor	Calafrio	Mialgia	Artralgia
Anfotericina B lipossomal									
n=31	6	4	3	2	4	3	1	2	0
%	19,4%	12,9%	9,7%	6,5%	12,9%	9,7%	3,2%	6,5%	0,0%
Resíduos ajustados	-0,1	(-)	(-)	(-)	(-)	0,8	-0,7	(-)	-1,3
Antimonial									
n= 25	2	3	2	2	1	0	0	3	4
%	8,0%	12,0%	8,0%	8,0%	4,0%	0,0%	0,0%	12,0%	16,0%
Resíduos ajustados	-1,7	(-)	(-)	(-)	(-)	-1,5	-1,4	(-)	3,6
Pentamidina									
n=11	4	3	0	1	0	0	0	0	0
%	36,4%	27,3%	0,0%	9,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Resíduos ajustados	1,4	(-)	(-)	(-)	(-)	-0,9	-0,9	(-)	-0,7
Anfotericina B desoxicolato									
n=14	3	4	1	3	0	0	3	0	0
%	21,4%	28,5%	7,1%	21,4%	0,0%	0,0%	21,4%	0,0%	0,0%
Resíduos ajustados	0,1	(-)	(-)	(-)	(-)	-1,1	2,7	(-)	-0,8
Anfotericina B complexo lipídico									
n= 13	6	5	3	1	3	4	2	1	0
%	46,2%	38,5%	23,1%	7,7%	23,1%	30,8%	15,4%	7,7%	0,0%
Resíduos ajustados	2,5	(-)	(-)	(-)	(-)	3,7	1,6	(-)	-0,8

Continua

Tabela 7 – Efeitos adversos relacionados à ingesta ou à infusão de medicamentos no tratamento da LM (conclusão)

	Flebite	Náusea/ Vômito	Febre	Cefaléia	Dor torácica	Tremor	Calafrio	Mialgia	Artralgia
Itraconazol									
n= 11	0	0	0	0	0	0	0	0,0%	0,0%
%	0,0%	0,0%	0,00%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Resíduos ajustados	-1,8	(-)	(-)	(-)	(-)	-0,9	-0,9	(-)	-0,7
Total= 105	21	19	9	9	8	7	6	6	4
%	20,0%	18,1%	8,6%	8,6%	7,6%	6,7%	5,7%	5,7%	3,8%
p*	0,029	0,112	0,342	0,523	0,106	0,005	0,037	0,529	0,021

NOTA: *Valor de p. Teste Qui-quadrado de Pearson.

Em relação aos efeitos adversos sistêmicos, observou-se que os pacientes tratados com anfotericina B desoxicolato e AFBL apresentaram mais IRA em relação aos demais grupos de drogas, enquanto o grupo que usou o antimonial apresentou menos IRA. Já o grupo da pentamidina apresentou significativamente mais alteração da função renal quando comparado aos demais. Os distúrbios hidroeletrólíticos ocorreram em 38,7% dos indivíduos que usaram AFBL e destes, 58,3% (7/12) desenvolveram hipocalcemia e 75% (9/12) hipomagnesemia. Dos pacientes que receberam anfotericina B desoxicolato 50% apresentaram alterações hidroeletrólíticas: todos desenvolveram hipocalcemia (7/7) e 42% (3/7) apresentaram hipomagnesemia. O grupo que usou antimonial pentavalente foi o único que desenvolveu alterações eletrocardiográficas e nas enzimas pancreáticas, com significância estatística (Tabela 8). Efeitos colaterais sistêmicos menos frequentes foram mielotoxicidade, em 3 casos (no grupo do antimonial, da pentamidina e da ABCL) e hipoglicemia, em 1 caso, no grupo da pentamidina. Não houve caso de diabetes *mellitus*. Em relação a estes efeitos adversos menos frequentes, não houve associação significativa das drogas com o desenvolvimento dos mesmos neste estudo.

Tabela 8 – Efeitos adversos sistêmicos nos pacientes tratados para LM

	DHE ^a	IRA ^b	Alteração da função renal	Alteração no ECG ^c	Alteração de enzimas pancreáticas	Alteração de enzimas hepáticas
Anfotericina B lipossomal						
n=31	12	11	6	0	0	0
%	38,70%	35,50%	19,40%	0,00%	0,00%	0,00%
Resíduos ajustados	1,5	2,8	0,1		-1,8	(-)
Antimonial				-1,5		
n= 25	1	0	2	5	7	3
%	4,00%	0,00%	8,00%	20,00%	28,00%	12,00%
Resíduos ajustados	-3,1	-2,8	-1,6	4,1	4,9	(-)
Pentamidina						
n=11	4	0	5	0	0	0
%	36,40%	0,00%	45,50%	0,00%	0,00%	0,00%
Resíduos ajustados	0,6	-1,7	2,4	-0,8	-0,9	(-)
Anfotericina B desoxicolato						
n=14	7	8	5	0	0	0
%	50,00%	57,10%	35,70%	0,00%	0,00%	0,00%
Resíduos ajustados	1,9	3,9	1,7	-0,9	-1,1	(-)
Anfotericina B complexo lipídico						
n= 13	6	1	2	0	0	1
%	46,20%	7,69%	15,40%	0,00%	0,00%	7,70%
Resíduos ajustados	1,5	-1,1	-0,4	-0,9	-1,0	(-)
Itraconazol						
n= 11	0	0	0	0	0	0
%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Resíduos ajustados	-2,2	-1,7	-1,7	-0,8	-0,9	(-)
Total= 105	30	20	20	5	7	4
%	28,60%	19,00%	19,00%	4,80%	6,70%	3,80%
p*	0,002	<0,001	0,032	0,005	<0,001	0,17

NOTA: ^aDHE: Distúrbio Hidroeletrolítico. ^bIRA: Insuficiência Renal Aguda. ^cECG: eletrocardiograma.

*Valor de p. Teste Qui-quadrado de Pearson.

Quando comparadas apenas a AFBL e a anfotericina B desoxicolato, não houve diferença significativa entre elas para o desenvolvimento de IRA por meio do teste qui-quadrado ($p= 0,173$) e, quando analisadas as drogas de formulações lipídicas usadas nesse estudo (AFBL e Anfotericina B complexo lipídico) em relação à anfotericina B desoxicolato por meio do teste Exato de Fisher, também não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p= 0,056$) para o desenvolvimento de IRA (Tabela 9).

Tabela 9 – Comparação dos casos de Insuficiência Renal Aguda (IRA) nos pacientes tratados para LM entre as formulações lipídicas de anfotericina B e a anfotericina B desoxicolato

		IRA		Total	p*
		Sim	Não		
Anfotericina B lipossomal	n	11	20	31	
	%	35,48%	64,52%	100%	$p= 0,173^*$
Formulações lipídicas ^a	n	12	32	44	
	%	27,27%	72,73%	100%	$p= 0,056^{**}$
Anfotericina B desoxicolato	n	8	6	14	
	%	57,14%	42,86%	100%	

NOTA: ^aAFBL e anfotericina complexo lipídico. *Valor de p. Teste Qui-quadrado de Pearson.

^{**}Valor de p. Teste Exato de Fisher.

Dentro de cada grupo de droga, foi avaliado, por meio do teste exato de Fisher ou teste qui-quadrado de Pearson, se algumas variáveis categóricas teriam associação com o aparecimento dos efeitos adversos sistêmicos mais relevantes encontrados neste estudo (IRA, alteração da função renal, de enzimas pancreáticas e do eletrocardiograma) e, por meio do teste de Mann-Whitney, se algumas variáveis numéricas apresentariam diferença significativa entre quem desenvolveu ou não estes efeitos. As variáveis categóricas avaliadas foram: sexo, etnia, HAS, DM, tratamento prévio no último mês e clearance basal de creatinina menor que 60ml/min. As variáveis numéricas avaliadas foram: idade e o valor do clearance basal. As variáveis que envolvem o clearance basal foram avaliadas apenas para o desenvolvimento de IRA e de alteração da função renal.

Em relação à IRA, observou-se apenas no grupo que recebeu AFBL - por meio do teste exato de Fisher - que aqueles que receberam algum outro tratamento prévio na internação vigente desenvolveram proporcionalmente menos IRA do que aqueles que não receberam ($p=0,029$) (Tabela 10).

Tabela 10 – Influência da variável tratamento prévio no desenvolvimento de IRA no grupo que recebeu anfotericina B lipossomal

TRATAMENTO PRÉVIO	IRA		p*
	NÃO	SIM	
NÃO	13	11	
%	65%	100%	
Resíduos ajustados	-2,2	2,2	
SIM	7	0	
%	35%	0%	
Resíduos ajustados	2,2	-2,2	
			0,029
TOTAL	20	11	

NOTA: *Valor de p. Teste Exato de Fisher

As demais variáveis categóricas como sexo, etnia, HAS, DM e clearance basal menor que 60 ml/min não mostraram associação significativa com a IRA em nenhum dos seis diferentes grupos de drogas, assim como não houve diferença significativa na idade e no valor do clearance basal entre aqueles que desenvolveram IRA e aqueles que não desenvolveram (Tabela 11).

Tabela 11 – Mediana da idade e do clearance basal de creatinina dos pacientes que desenvolveram IRA durante o tratamento com anfotericina B

Grupo		IRA		p*
		Sim	Não	
Anfotericina B lipossomal	idade	66	63	0,212
	clearance basal	66,94	76,25	0,670
Anfotericina B desoxicolato	idade	61	56	0,662
	clearance basal	74,28	75,50	0,852
Anfotericina B complexo lipídico	idade	61	61	1,000
	clearance basal	79,50	53,35	0,308

NOTA: Idade em anos; clearance basal de creatinina em ml/min.

*Valor de p. Teste U de Mann-Whitney

Em cada grupo específico de droga, nenhuma variável categórica ou numérica demonstrou relação significativa com a alteração da função renal. Alteração de enzimas pancreáticas e alterações eletrocardiográficas apenas apareceram no grupo de pacientes tratados com antimonial pentavalente e, também, nenhuma das variáveis estudadas demonstrou relação estatisticamente significativa com o desenvolvimento dessas alterações.

Entre os pacientes que apresentaram efeitos adversos, alguns precisaram interromper o tratamento, provisoriamente ou definitivamente. Ocorreram mais casos de interrupções definitivas com o uso da anfotericina B desoxicolato ($p < 0,001$). O itraconazol não foi avaliado, visto que não se observou efeito adverso com o seu uso (Tabela 12).

Tabela 12 – Interrupções por evento adverso durante o tratamento

	Interromperam		
	Provisoriamente	Definitivamente	Total
Anfotericina B lipossomal			
n	8	10	31
%	25,8%*	32,3%*	100,0%
Resíduos ajustados	3	-2,0	(-)
Antimonial			
n= 25	0	11	25
%	0%*	44,0%	100,0%
Resíduos ajustados	-2,1	-0,3	(-)
Pentamidina			
n	1	3	11
%	9,1%	27,3%	100,0%
Resíduos ajustados	-0,3	-1,4	(-)
Anfotericina B desoxicolato			
n	0	12	14
%	0,0%	85,7%*	100,0%
Resíduos ajustados	-1,5	3,2	(-)
Anfotericina B complexo lipídico			
n	2	8	13
%	15,4%	61,5%	100,0%
Resíduos ajustados	0,4	1,1	(-)
TOTAL	11	44	94
%	11,7%	46,8%	100,0%
p	p=0,03	p<0,001	

NOTA: *Valores que contribuíram para valor de $p < 0,05$. Teste Qui-quadrado de Pearson.

Entre os 11 pacientes que interromperam provisoriamente o tratamento, o tempo de médio desta interrupção foi de 4 dias, com desvio padrão de 3, e variou de 1 a 11 dias. No grupo que usou AFBL (8/31) esse tempo variou de 1 a 6 dias, com média de 3 dias e desvio padrão de 2, no grupo que usou pentamidina (1/11) o tempo de interrupção foi de 11 dias. No grupo da ABCL (2/13) a média foi de 5 dias e o tempo de interrupção para cada paciente foi de 4 e de 6 dias.

Dentre as principais causas para a interrupção definitiva estão IRA (5/10) e alteração da função renal (4/10) com o uso da AFBL (10 interrupções); alterações eletrocardiográficas (5/11) e nas enzimas pancreáticas (3/11) com o uso do antimonial pentavalente (11 interrupções); alteração da função renal (1 caso), hipoglicemia (1 caso) e mielotoxicidade (1 caso) com o uso da pentamidina (3 interrupções); IRA (8/12) e alteração da função renal (4/12) com o uso da anfotericina B desoxicolato (12 interrupções); e IRA (1 caso), tremor ou calafrio (2/8) com o uso da ABCL (8 interrupções).

5.4 Tempo de Internação e de Seguimento

A mediana do tempo de internação para o tratamento da LM foi de 22 dias, com variação de 8 a 67 dias, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos de drogas. O tempo de seguimento apresentou mediana de 34 meses, variando de 5 a 182 meses. A descrição dos tempos de internação e de seguimento para cada grupo de drogas está apresentada nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Tempo de internação dos pacientes tratados para LM

Drogas	Tempo de internação (dias)			
	Mediana	Mínimo	Máximo	n válido
Anfotericina B lipossomal	20 [14-25]	9	67	32
Antimonial	22 [14-27]	8	35	13
Pentamidina	27 [24-32]	12	33	10
Anfotericina B desoxicolato	27 [26-28]	26	28	2
Anfotericina B complexo lipídico	25 [20-29]	18	29	4
Total	22	8	67	62

NOTA: Para avaliação do tempo de internação foram excluídas as interrupções por efeito adverso sem sucesso terapêutico. Apenas 1 paciente usou Itraconazol na enfermaria, com tempo de internação de 8 dias, e completou o tratamento em regime ambulatorial. $p = 0,152$. Teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 14 – Tempo de seguimento dos pacientes tratados para LM

Drogas	Tempo de seguimento (meses)			
	Mediana ^a	Mínimo	Máximo	n válido
Anfotericina B lipossomal	25 [17-45]	8	180	30
Antimonial	67 [39-119]	5	182	17
Pentamidina	32 [24-66]	16	102	10
Anfotericina B desoxicolato	137 [108-166]	108	166	2
Anfotericina B complexo lipídico	96 [86-126]	36	178	7
Itraconazol	28 [12-39]	6	136	11
Total	34	5	182	77

NOTA: Para avaliação do tempo de seguimento foram excluídas as interrupções por efeito adverso sem sucesso terapêutico. $p=0,001$. Teste de Kruskal-Wallis.

5.5 Desfecho

Dos 44 pacientes que inicialmente interromperam definitivamente o tratamento por algum efeito adverso, 15 evoluíram para um desfecho final com cicatrização e 1 com recidiva, sendo que um dos pacientes com interrupção perdeu o seguimento após uso do antimonial, e os demais não obtiveram sucesso terapêutico. Dessa forma, o estudo demonstrou cicatrização final da lesão em 57,1% dos tratamentos (60/105) e insucesso terapêutico em 42,9% (45/105). As causas do insucesso foram atribuídas a 28 casos (26,67%) de interrupções por evento adverso a alguma das drogas, 16 casos (15,2%) de recidivas e 1 caso (1%) devido a falha terapêutica com o uso do antimonial pentavalente. Foi observada maior taxa de cicatrização no grupo que usou AFBL e menor no grupo que usou anfotericina B desoxicolato, e mais casos de recidiva com o uso do itraconazol ($p < 0,05$). A anfotericina B desoxicolato foi a droga com mais casos de interrupção por efeito adverso sem sucesso terapêutico. O desfecho detalhado para cada droga está descrito na Tabela 15.

Tabela 15 – Desfechos dos tratamentos dos pacientes com LM

Drogas	Sucesso Terapêutico	Sem Sucesso Terapêutico		
	Cicatrização final	Falha	Interrupção ^a	Recidiva
Anfotericina B lipossomal				
n=32	26	0	2	4
%	81,3%*	0,0%	6,3%*	12,5%
Resíduos ajustados	3,3	(-)	-3,1	-0,5
Antimonial				
n=24 ^b	14	1 ^c	7	2
%	58,3%	4,0%	29,2%	8,3%
Resíduos ajustados	0,1	(-)	0,3	-1,1
Pentamidina				
n=11	8	0	1	2
%	72,7%	0,0%	9,1%	18,2%
Resíduos ajustados	1,1	(-)	-1,4	0,3
Anfotericina B desoxicolato				
n=14	2	0	12	0
%	14,3%*	0,0%	85,7%*	0,0%
Resíduos ajustados	-3,5	(-)	5,4	-1,7
Anfotericina B complexo lipídico				
n=13	6	0	6	1
%	46,2%	0,0%	46,2%	7,7%
Resíduos ajustados	-0,9	(-)	1,7	-0,8
Itraconazol				
n=11	4	0	0	7
%	36,4%	0,0%	0%*	63,6%*
Resíduos ajustados	-1,5	(-)	-2,1	4,7
n total				
n=105	60	1	28	16
%	57,1%	1,0%	26,7%	15,2%
p*	p= 0,001		p<0,001	p<0,001

NOTA: ^aPacientes que interromperam a droga devido a efeito adverso antes do término do tratamento e que não evoluíram para cicatrização ou recidiva. ^bUm dos pacientes que usou antimonial perdeu o seguimento. ^cO paciente completou o tratamento, mas apresentou falha devido a recidiva da lesão antes dos seis meses de seguimento.

*Valor de p< 0,05. Teste Qui-quadrado de Pearson.

As taxas de recidiva da tabela 15 levam em consideração a intenção original de tratamento. Ao se avaliar a recidiva em relação apenas aos pacientes que apresentaram uma cicatrização inicial, obteve-se para a AFBL

uma taxa de recidiva de 13,33% (4/30), para o antimonial de 12,5% (2/16), para a pentamidina de 20% (1/10), para a ABCL de 14,28% (1/7) e para o itraconazol a mesma taxa de 63,6% (7/11).

Analisando-se a intensidade das associações encontradas na tabela 15, foi encontrado para a interrupção sem sucesso com o uso da anfotericina B desoxicolato em relação a outras drogas um OR= 28,125 e IC 95% [5,728-138,094], e para recidiva com uso do itraconazol um OR= 16,528 e IC 95% [4,045-67,531], sendo que ambas as análises demonstraram $p < 0,001$. Já a intensidade das associações encontradas com uso da AFBL em relação às demais drogas está descrita na tabela 16. A AFBL demonstrou maior cicatrização e menor interrupção sem sucesso terapêutico em relação aos demais tratamentos realizados ($p < 0,05$).

Tabela 16 – Desfechos de tratamento com o uso da anfotericina B lipossomal em relação às outras drogas na LM

	p	OR	IC 95%
Cicatrização			
AFBL	0,001*	4,971	1,829-13,508
Interrupção^a			
AFBL	0,002*	0,121	0,027-0,545
Recidiva			
AFBL	0,771	0,726	0,215-2,452

NOTA: AFBL: Anfotericina B lipossomal; OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confiança.

^aPacientes que interromperam a droga devido a efeito adverso antes do término do tratamento e que não evoluíram para cicatrização ou recidiva. Outras drogas: Antimonial pentavalente, pentamidina, anfotericina B desoxicolato, anfotericina B complexo lipídico e Itraconazol. *Valor de $p < 0,05$. Teste Qui-quadrado de Pearson.

A tabela 17 demonstra o resultado do desfecho de cada droga, individualmente, em relação à AFBL. Os pacientes deste estudo que usaram a anfotericina B desoxicolato não apresentaram recidiva e os que usaram itraconazol não apresentaram interrupção, portanto não foi possível a análise proposta nestas duas situações.

Tabela 17 – Análise dos desfechos de cada droga em relação à anfotericina B lipossomal no tratamento da LM

		Cicatrização	Interrupção^a	Recidiva
Antimonial	p	0,060	0,030**	0,691
	OR	0,323	6,176	0,636
	IC (95%)	0,097-1,076	1,151-33,151	0,107-3,800
Pentamidina	p	0,672	1,000	0,637
	OR	0,615	1,500	1,556
	IC (95%)	0,125-3,037	0,123-18,363	0,243-9,954
Anfotericina B Desoxicolato	p	0,000*	0,000**	–
	OR	0,038	90,000	–
	IC (95%)	0,007-0,219	11,344-714,049	–
Anfotericina B complexo lipídico	p	0,030**	0,004**	1,000
	OR	0,198	12,857	0,583
	IC (95%)	0,048-0,807	2,127-77,734	0,059-5,779
Itraconazol	p	0,009**	–	0,002**
	OR	0,132	–	12,250
	IC (95%)	0,029-0,600	–	2,438-61,563

NOTA: OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confiança. ^aPacientes que interromperam a droga devido a efeito adverso antes do término do tratamento e que não evoluíram para cicatrização ou recidiva. *Valor de $p < 0,05$. Teste Qui-quadrado de Pearson. **Valor de $p < 0,05$. Teste Exato de Fisher.

Confrontando-se o uso apenas das formulações lipídicas do estudo com o tratamento daqueles que usaram anfotericina B desoxicolato, foram encontrados os resultados descritos na tabela 18. Observou-se 71,1% (32/45) de cicatrização no grupo que usou formulações lipídicas versus 14,3% (2/14) entre os que usaram a anfotericina B desoxicolato e 17,8% (8/45) de interrupções sem sucesso terapêutico com o uso das formulações lipídicas versus 85,7% entre os que usaram anfotericina B desoxicolato. Como não houve recidiva no grupo que usou a formulação desoxicolato, este desfecho não foi analisado.

Tabela 18 – Análise dos desfechos cicatrização e interrupção com o uso das formulações lipídicas de anfotericina B em relação à anfotericina B desoxicolato no tratamento da LM

	p	OR	IC 95%
Cicatrização			
Lipídicas ^a	<0,001*	14,769	2,894-75,369
Interrupção^b			
Lipídicas ^a	<0,001**	0,036	0,007-0,193

NOTA: OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confiança. ^aAnfotericina B lipossomal e anfotericina B complexo lipídico. ^bPacientes que interromperam a droga devido a efeito adverso antes do término do tratamento e que não evoluíram para cicatrização ou recidiva.

*Valor de $p < 0,005$. Teste Qui-quadrado de Pearson. **Valor de $p < 0,05$. Teste Exato de Fisher

Na tabela 19 foi descrito o perfil dos pacientes que cicatrizaram após o tratamento da LM. As variáveis avaliadas foram sexo, etnia, tratamento prévio, idade e número de sítios acometidos pelas lesões. As variáveis sexo e etnia foram as únicas que apresentaram alguma associação com a cicatrização: ser do sexo feminino e não caucasiano esteve associado a uma maior cicatrização final apenas no grupo que recebeu antimonial pentavalente ($p < 0,05$).

Tabela 19 – Perfil dos pacientes que cicatrizaram após receberem tratamento para LM

	Sexo ^a		Etnia ^b		Tratamento prévio		Idade ^c	Nº sítios ^c
	F	M	C	NC	Sim	Não	(anos)	
Anfotericina B Lipossomal (n= 32)								
Cicatrização (n= 26)	7	19	18	8	6	20	65	1
%	26,9%	73,1%	69,2%	30,8%	23,1%	76,9%	—	—
p	0,346		1,000		1,000		0,651	0,556
Antimonial (n= 24)^d								
Cicatrização (n=14)	9	5	6	8	0	14	52	1
%	64,3%*	35,7%	42,9%	57,1%*	0,0%	100,0%	—	—
p	0,047		0,033		0,417		0,709	0,084
Pentamidina (n= 11)								
Cicatrização (n=8)	3	5	4	4	1	7	65	1
%	37,5%	62,5%	50,0%	50,0%	12,5%	87,5%	—	—
p	1,000		1,000		1,000		0,376	0,194
Anfotericina B desoxicolato (n=14)								
Cicatrização (n=2)	2	0	0	2	0	2	54	3
%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%	—	—
p	0,462		0,462		1,000		0,352	0,198
Anfotericina B complexo lipídico (n=13)								
Cicatrização (n=6)	3	3	4	2	4	2	60	2
%	50,0%	50,0%	66,7%	33,3%	66,7%	33,3%	—	—
p	1,000		0,559		1,000		0,836	0,366
Itraconazol (n=11)								
Cicatrização (n=4)	0	4	1	3	0	4	67	2
%	0,0%	100,0%	25,0%	75,0%	0,0%	100,0%	—	—
p	0,194		0,545		1,000		0,527	0,927
Total (n=105)								
Cicatrização (n=60)	24	36	33	27	11	49	63	1
%	40,0%	60,0%	55,0%	45,0%	18,3%	81,7%	—	—
p	0,819		0,149		0,830		0,907	0,190

NOTA: ^aSexo: F, feminino; M, masculino. ^bEtnia: C, caucasiano; NC, não caucasiano. ^cMediana.

^dUm dos pacientes que usou antimonial perdeu o seguimento.

p: Valor de p; comparação entre os indivíduos que cicatrizaram e os que não cicatrizaram.

*Valores de p que contribuíram para p < 0,05. Teste Exato de Fisher.

5.6 Dose de Anfotericina B

A média da dose final alcançada por todos os pacientes tratados com AFBL, assim como as doses mínimas e máximas totais, estão descritas na Tabela 20. Não houve diferença significativa entre as médias das doses dos pacientes que cicatrizaram e as dos que não cicatrizaram com o uso da AFBL (Tabela 21).

A dose total por dia, considerando o tempo de tratamento de cada paciente, apresentou uma média de 2,65 mg/kg/dia.

Tabela 20 – Doses utilizadas pelos pacientes tratados com anfotericina B lipossomal

Anfotericina B lipossomal	
Dose em mg	
Média e desvio padrão	1907 (837)
Mínima e Máxima	[450 - 3245]
Dose em mg/kg	
Média e desvio padrão	28,91 (12,94)
Mínima e máxima	[6 - 50]
Eficácia	81,30%

Tabela 21 – Comparação entre as doses cumulativas de anfotericina B lipossomal de acordo com o desfecho

	Cicatrização total	N	Média	Desvio Padrão	p*
Dose Total (mg)	Não	6	1860,83	1100,75	0,883
	Sim ^a	26	1917,88	790,73	
Dose/Peso (mg/Kg)	Não	6	27,33	17,60	0,746
	Sim ^a	26	29,27	12,04	

NOTA: ^aExcluídos os pacientes com recidiva e com interrupção sem cicatrização final.

*p> 0,05. Teste t de Student.

Neste estudo, 8 pacientes receberam uma dose cumulativa final de tratamento menor que 20 mg/kg/dia de AFBL, sendo que 5 receberam uma

dose total situada no intervalo de 5 a 10 mg/kg - com 2 interrupções de tratamento sem sucesso terapêutico - e 3 pacientes receberam uma dose final compreendida entre 10 e 20 mg/kg, tendo a cicatrização como desfecho final. Em relação aos demais 24 pacientes, 20 alcançaram o sucesso terapêutico e 4 recidivaram: 1 recebeu a dose de 24 mg/kg (com sucesso), 6 receberam dose cumulativa final entre 25 e 30 mg/kg (1 recidiva), 5 pacientes entre 30 e 35 mg/kg (com sucesso), e 12 pacientes receberam uma dose maior que 35 mg/kg (3 recidivas).

Em relação à ABCL, 6 pacientes alcançaram o sucesso terapêutico, com uma dose cumulativa média ao final do tratamento de 1773,33 mg ($\pm$ 592,07) e de 26,75 mg/kg ($\pm$ 4,27). As doses utilizadas para cada um destes tratamentos foram: 21,14 mg/kg; 23,16 mg/kg; 26,9 mg/kg; 27,55 mg/kg; 28,38 mg/kg e 33,34 mg/kg. Um paciente recidivou e recebeu dose total de 31,45 mg/kg. Outros 6 pacientes interromperam o tratamento por efeito adverso relacionado à infusão com dose ao final do tratamento inferior a 15 mg/kg, sem cicatrização da lesão mucosa.

6. Discussão

6.1 Aspectos Clínicos, Epidemiológicos e Laboratoriais

No Brasil, a LTA é um grande problema de Saúde Pública devido a sua grande distribuição demográfica e ao grau de morbidade ocasionado pela sua forma cutaneomucosa ou pelo acometimento de mucosas isoladamente. A LM, além de causar desconforto ao paciente e importante estigma social, pode, ocasionalmente, levar ao óbito, seja pela falta de capacitação em utilizar as drogas disponíveis que apresentam toxicidade apreciável, seja pelo acometimento das vias aéreas.

Assim como na literatura, a maioria dos casos de LM (60,6%) foi do sexo masculino (Jones *et al.*, 1987; Amato *et al.*, 2009; Lessa *et al.*, 2012), possivelmente por esta ser, em grande parte, uma infecção relacionada às atividades laborais, com mais possibilidade de exposição ao flebótomo e a genótipos parasitários associados ao envolvimento mucoso no ambiente de trabalho (Schriefer *et al.*, 2004 e 2009; Jirmanus *et al.*, 2012). Outra possibilidade pode estar relacionada aos níveis de testosterona, já que estudos demonstraram *in vitro* que este hormônio pode aumentar a produção de IL-4 e TGF- β , levando a lesões mais graves (Travi *et al.*, 2002; Snider *et al.*, 2009). Estudos mostram que, além do sexo masculino, a LM é mais frequente em pacientes que tiveram lesões grandes e múltiplas, naqueles que não realizaram tratamento sistêmico - ou que este foi incompleto - e nos desnutridos (Jones *et al.*, 1987; Machado-Coelho *et al.*, 2005). Segundo Machado-Coelho *et al.* (2005), as formas mucosa e disseminada da leishmaniose podem estar associadas ao sexo masculino, atividade ocupacional relacionada a agricultura e idade adulta avançada. A média de idade encontrada foi de 57 anos (± 14), e outro fator que pode ter contribuído para uma faixa etária mais elevada neste estudo é que boa parcela dos pacientes que são encaminhados para o Ambulatório de Leishmanioses do HC-FMUSP não conseguiu resultado com outras drogas usadas previamente (43,66% dos casos) e/ou demorou a realizar o diagnóstico de LM: 64% dos pacientes deste estudo demoraram 5 ou mais anos do início dos sintomas até receberem o diagnóstico.

A Região Nordeste é considerada endêmica para a contaminação pela *Leishmania (V) braziliensis* (Cuba Cuba *et al.*, 1985; Santos *et al.*, 2000) e coincide com a principal região da provável aquisição da doença neste estudo (50% dos casos), de forma semelhante ao observado em outros trabalhos (Jirmanus *et al.*, 2012; Amato *et al.*, 2009). A região Norte, segundo o Boletim Epidemiológico de 2016 do Ministério da Saúde, possui o maior número de casos de LTA da Federação, contudo, é importante ressaltar que os dados não separam a forma cutânea da forma mucosa, e que um grande número de casos nessa região, especialmente no Estado do Amazonas, são causados pela *Leishmania (V.) guyanensis*, a qual está predominantemente relacionada à forma cutânea da LTA, e não à LM (Lainson *et al.*, 1994; Talhari *et al.*, 1988). A segunda localidade com maior número de casos de LM neste estudo foi a região Sudeste, responsável por 31,4% dos casos, provavelmente devido ao fluxo migratório que o Estado de São Paulo recebe, seguida pela região Sul com 10% dos casos.

Hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes *mellitus* foram as comorbidades mais frequentes, presentes em 59,2%, 16,9% e 9,9% dos pacientes com LM, respectivamente. A literatura mostra uma prevalência de HAS em pacientes com LM que varia de 43 a 58,6%, e de diabetes *mellitus* de 7,86 a 24,1% (Amato *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2015). A elevada prevalência de determinadas comorbidades em nosso estudo pode ser em função da idade mais avançada dos pacientes que chegam ao ambulatório do HC-FMUSP, como já explicado anteriormente.

Para o desenvolvimento da leishmaniose mucosa é necessária a aquisição de leishmaniose cutânea prévia ou, pelo menos, a inoculação do protozoário na pele. Neste estudo, de 48 pacientes avaliados, 81,3% relataram lesão cutânea típica prévia ou apresentavam cicatriz ao exame físico, semelhante ao estudo de Saenz *et al.* (1989), que encontraram relato em 84% dos 25 casos avaliados. Lessa *et al.* (2012) chegaram a relatar evidência de lesão prévia em 92% dos 50 pacientes com LM por eles avaliados. A localização dessas lesões varia com o tipo de atividade que o hospedeiro humano pratica, com a temperatura local do ambiente, que leva ou não à exposição de uma determinada área corporal, e com a característica do vetor.

Encontramos 68,6% das lesões em membros inferiores. A literatura mostra predominância de lesões em membros superiores nos pacientes com LC (Harms *et al.*, 2003; Solomon *et al.*, 2007, 2013), enquanto em estudos envolvendo apenas pacientes com LM há predomínio das lesões em membros inferiores (Marsden, 1986; Lessa *et al.*, 2012). Romero *et al.* (2001) constataram um maior comprometimento de membros inferiores nas formas causadas por *Leishmania (V.) braziliensis* do que naquelas causadas por *Leishmania (V.) guyanensis*, o que, possivelmente, explica também o achado deste estudo, uma vez que a *L (V.) brasiliensis* é a principal espécie causadora de LM em nosso meio (Grimaldi *et al.*, 1989).

Os sintomas encontrados com mais frequência foram obstrução nasal (72,9%), epistaxes (70,0%) e rinorréia (52,9%), assim como observado na literatura (Saenz *et al.*, 1989; Amato *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2015). De acordo com Marsden (1986), os referidos sintomas estão entre os mais precoces da LM. Raramente há queixa de prurido nasal e dor, entretanto, na ocorrência de infecção secundária e sinusite pode haver dor local e cefaleia (Brasil, 2010)

Em relação à localização das lesões, a mucosa da fossa nasal e o septo nasal foram os sítios mais acometidos, presentes em mais de 70% dos indivíduos com LM, como observado, também, na literatura (Cuba *et al.*, 1984; Carvalho *et al.*, 1985; Amato *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2015). A predileção pelo acometimento inicial em mucosa e septo nasais não está bem esclarecida, mas alguns autores defendem a teoria de que a temperatura mais baixa desta localização em relação ao restante do organismo ocasionaria uma resposta macrofágica inadequada em eliminar a *Leishmania* (Scott, 1985; Marsden, 1986). Já o acometimento da faringe e do palato, foi, neste estudo, de 26,8% e 18,3%, respectivamente, seguidos pela laringe, que foi acometida em 9 dos 71 pacientes (12,7%). Amato *et al.* (2009) observaram acometimento de laringe em 22 de seus 140 pacientes (16%). Lesões na cavidade oral, faringe e laringe raramente ocorrem isoladamente, sendo frequentemente associadas à lesão inicial da mucosa nasal (Marsden, 1986; Palheta Neto *et al.*, 2008; Amato *et al.*, 2009). Este estudo mostrou acometimento concomitante de mais de um sítio

em 37% dos casos, entretanto, é importante lembrar que se considerou toda a cavidade nasal, incluindo mucosa da fossa nasal e o septo, como sítio único.

A LM é uma doença com diversidade de agentes, de reservatórios e de vetores, que apresenta diferentes padrões de transmissão e um conhecimento ainda limitado sobre alguns aspectos, o que a torna de difícil controle (Brasil, 2010). Diante disso, são fundamentais as ações de vigilância e de monitoramento onde há maior produção da doença, o conhecimento de suas características ambientais, sociais e econômicas, bem como estratégias de controle adequadas a cada padrão de transmissão e a realização de ações voltadas para o diagnóstico precoce e para o tratamento adequado dos casos detectados.

A demora no diagnóstico é um fato que chama a atenção, apenas 7 pacientes de 50 avaliados (14%) fizeram o diagnóstico no primeiro ano dos sintomas e 32 (64%) demoraram cinco ou mais anos. Guerra *et al.* (2011) analisaram 46 pacientes com LM, e a média do tempo de duração da doença foi de 8,3 anos. A inespecificidade dos sintomas contribui para o atraso no diagnóstico, muitos dos pacientes que chegam ao ambulatório de leishmanioses do HC-FMUSP são geralmente encaminhados após várias investigações em outros serviços, sem diagnóstico ou com diagnóstico errôneo.

Na presença de lesão mucosa, deve-se realizar o exame otorrinolaringológico e, se possível, complementá-lo com laringoscopia e/ou fibroscopia. No exame da mucosa, podem ser observados eritema, infiltração, erosão, ulceração com fundo granuloso, crostas e exsudato mucopurulento se houver infecção secundária (Brasil, 2010). Na mucosa do nariz pode haver perfuração ou até destruição do septo cartilaginoso, e na boca perfuração do palato mole. Os achados na rinoscopia e/ou nasofibroscopia mais comuns foram a perfuração septal em 66,7%, a presença de crostas em 65,2% e de processo granulomatoso em 58% dos casos. Encontram-se resultados variados na literatura; a perfuração septal foi um achado que variou de 41,4% a 77% dos pacientes (Sampaio, 1984; Amato *et al.*, 2009, Cunha *et al.*, 2015). Sampaio (1984) observou processo granulomatoso em 72% de seus 47 pacientes e Cunha *et al.* (2015) descreveram a presença de crostas em 55,2% dos casos de LM.

A TC de seios da face revelou uma alta frequência de alterações: 86,2%. Espessamento da mucosa de algum seio paranasal, por exemplo, ocorreu em 62,1% (18/29) dos casos e sinusopatia em 27,27%. Camargo *et al.* (2015), inclusive, já descreveram o valor expressivo de 96% de espessamento de mucosa de seios paranasais nas tomografias realizadas em seu estudo, sugerindo que a inflamação em pacientes com LM não se restringe apenas à mucosa nasal, podendo se estender aos seios paranasais e às demais estruturas do trato respiratório, com maior prevalência de doença sinusal nesta população, mesmo após o tratamento da leishmaniose. A fisiopatogenia do envolvimento paranasal nesses pacientes permanece obscura. O espessamento da mucosa pode ser causado pela infecção direta da mucosa do seio pelo protozoário de *Leishmania*, que pode manter-se vivo na mucosa, apesar da cicatrização (Amato *et al.*, 2003a). Outra hipótese é a inflamação crônica com a expressão contínua do fator de necrose tumoral- α *in situ* após a cicatrização da lesão mucosa, conforme descrito por Amato *et al.* (2003b). Uma terceira hipótese é sinusite crônica secundária à obstrução das vias naturais de drenagem dos seios paranasais. Mais estudos nessa área, entretanto, são necessários para demonstrar a LM como fator de risco para o desenvolvimento da rinossinusite.

O diagnóstico de LM é baseado na detecção de amastigotas de *Leishmania* nas lesões mucosas. Em todos os casos de LTA, é desejável ter o diagnóstico de leishmaniose confirmado pelo achado do agente etiológico ou, ainda, de seu antígeno ou de seu material genético na amostra obtida a partir da lesão; entretanto, devido à escassez de parasitas na mesma, nem sempre isso é possível (Cuba *et al.*, 1984; Nunes *et al.*, 1993). Dessa forma, quando essas abordagens falham, os testes imunológicos são usados para fornecer parâmetros indiretos para o diagnóstico. Neste estudo, 54,9% dos indivíduos receberam o diagnóstico com a ajuda destes testes imunológicos (IDRM, ELISA e RIFI) aliados a uma biópsia da lesão sugestiva de LM e a critérios clínicos e epidemiológicos, enquanto 45,1% tiveram o diagnóstico confirmado pela detecção do parasita, ou pela visualização do amastigota, ou pela positividade da IH e/ou da PCR na biópsia.

A IDRM traduz a resposta alérgica de hipersensibilidade retardada e tem alta sensibilidade e especificidade para o gênero *Leishmania*, em razão da sensibilização prévia causada pela LC, que gerou a metástase para as mucosas, e das próprias características da doença, que envolvem uma resposta imune hiper-reativa. A positividade da IDRM varia na literatura de 82 a 100% nos casos de LM (Sáenz *et al.*, 1989; Marsden, 1994; Amato *et al.*, 2009). Este estudo revelou positividade próxima a 90%, em 41 dos 47 pacientes que realizaram o teste, semelhante ao valor encontrado por Cunha *et al.* (2015). A IDRM pode se apresentar negativa nos primeiros 30 dias após o início das lesões, na leishmaniose cutânea difusa e em pacientes imunodeprimidos. A IDRM com resultado negativo em pacientes com doença mucosa avançada é um sinal de mau prognóstico, e pode refletir a concomitância de desnutrição, que ocasionaria imunodepressão (Marsden, 1994). Um estudo, no qual incluíam-se formas cutâneas e mucosas de LTA, concluiu que o risco de recidiva era três vezes maior nos pacientes que apresentaram a IDRM negativa previamente ao tratamento. (Passos *et al.*, 1999). Apesar da sua grande importância diagnóstica, deve ser lembrado que sua positividade não significa doença em atividade, mas sim que o indivíduo já se expôs a antígenos do parasito e, além disso, que após o tratamento ou cicatrização espontânea da lesão, a IDRM, geralmente, permanece positiva (Marsden, 1986; Vegas-Kerdel; Kerdel, 1992). A IDRM, portanto, não pode ser considerada como elemento suficiente para o diagnóstico em indivíduos moradores de área endêmica.

A detecção de anticorpos e de antígenos de *Leishmania* pode ser realizada por diferentes métodos. Os testes sorológicos analisados neste estudo foram o ELISA e a RIFI, cuja sensibilidade foi de 89,1% e de 61,4% respectivamente, assim como encontrado na literatura, onde a sensibilidade para o ELISA variou de 80 a 98,33% e para a RIFI de 56,7 a 89% (Kar, 1995; Amato *et al.*, 2005; Goto; Lindoso, 2010; Cunha *et al.*, 2015). A sensibilidade dos testes pode variar de acordo com a espécie da *Leishmania* causadora da LM e, portanto, com o antígeno usado na preparação dos mesmos (Goto; Lindoso, 2010). Para desenvolver ensaios usando espécies específicas, um impedimento é a cultura de algumas espécies de *Leishmania*, como L. (V.)

braziliensis, que é difícil de cultivar e de ser mantida em cultura. Uma alternativa poderia ser o uso de antígenos recombinantes, que, além da produção independente de crescimento de parasitas, possui a vantagem de ser mais padronizado e uniforme (Goto; Lindoso, 2010). Os títulos de anticorpos geralmente são mais altos nas formas graves multiparasitárias, como na LCD e na leishmaniose visceral, e, embora os níveis de anticorpos específicos na LM sejam mais baixos do que os encontrados na LCD, eles são superiores aos observados na LC. Neste estudo, o número de sítios acometidos pela lesão da LM mostrou-se significativamente maior nos testes positivos da RIFI e não demonstrou associação com o ELISA. A técnica da RIFI apresenta uma sensibilidade menor que a do ELISA, como descrito, e, portanto, a extensão da lesão pode ter contribuído, de alguma forma, para a positividade da mesma. Há a necessidade, entretanto, de mais estudos para averiguar tal relação, já que ambas as técnicas são utilizadas na detecção de anticorpos. Após o tratamento e a cura clínica da forma cutânea, alguns trabalhos demonstraram queda ou mesmo negatização dos títulos da RIFI (Chiari *et al.*, 1973 e 1980; de Souza *et al.*, 1982), mas outros estudos não demonstraram correlação dos títulos de anticorpos com o estado clínico do paciente. Portanto, esta técnica sorológica, até o momento, não é confiável para o acompanhamento pós tratamento do doente com LM (Oliveira *et al.*, 1995), nem como critério de cura e nem para prever recorrência (Brasil, 2010). A sorologia também não deve ser usada como critério isolado para diagnóstico de LTA, já que pode ser positiva em quem apenas teve contato com o protozoário e não desenvolveu doença, ou apresentou cura espontânea da lesão cutânea. A RIFI apresenta, ainda, reação cruzada com leishmaniose visceral e doença de Chagas. Também foi descrita falsa positividade com o fator antinúcleo em pacientes com paracoccidioidomicose, pênfigo foliáceo sul-americano, esporotricose, malária e indivíduos aparentemente sadios (Kar, 1995; Brasil, 2010).

O diagnóstico etiológico clássico da LTA é feito pelo isolamento das formas promastigotas de *Leishmania* em cultura ou pela visualização de formas de amastigotas em exame histopatológico. O exame anatomopatológico da lesão na LM demonstra uma reação inflamatória crônica inespecífica ou reação granulomatosa, sendo o infiltrado inflamatório associado com alterações

vasculares e rico em plasmócitos, bem sugestivos, e também pode haver necrose (Magalhães, 1984; Nonata *et al.*, 1997). O encontro de formas amastigotas permite o diagnóstico definitivo, mas geralmente seu achado é infrequente e diminui progressivamente quanto maior for o tempo de evolução da doença (Nunes *et al.*, 1993). A literatura mostra, antes do tratamento, positividade para formas amastigotas variando entre 20 e 37,5% das biópsias (Magalhães, 1984; Sotto, 1986; Sáenz *et al.*, 1989), em poucos casos, chegando a 57% (Oliveira *et al.*, 2005). Neste estudo, foram encontrados parasitas em apenas em 4 dos 71 casos (5,6%) e, possivelmente, o tempo prolongado de doença e o fato de 43,66% dos pacientes já terem realizado algum tratamento prévio possam ter contribuído para esse baixo índice de positividade. O diagnóstico da LM, portanto, se torna um desafio, uma vez que as alterações clínicas e histopatológicas são facilmente confundidas com outras doenças, e os métodos convencionais para identificação e cultura de parasitas têm baixa sensibilidade. Dessa forma, torna-se extremamente útil, no intuito de descartar infecção por outros agentes, a realização de colorações específicas, como para bacilos álcool ácido resistentes, fungos e bactérias, e de técnicas auxiliares como a IH e a PCR, no sentido de aumentar a probabilidade de confirmação diagnóstica em material extraído de biópsia de lesão.

A utilização da imuno-histoquímica para detecção antigênica tem se mostrado um recurso diagnóstico importante. Sua positividade na LM pode variar entre 62,5 e 75% (Nunes *et al.*, 1993; Amato, 1997), entretanto, obteve-se positividade de apenas 33,3%, um pouco mais próximo ao estudo feito por Amato *et al.* (2009), que encontraram o valor de 49,1% dos 131 testes realizados em biópsias. Observou-se, também, mais testes de IH positivos entre os não caucasianos, fato este que precisa de mais estudos para corroborar tal relação. Uma possibilidade para essa baixa positividade encontrada neste estudo, como dito anteriormente, é o fato de que uma parte dos pacientes foi previamente tratada com outras drogas. A PCR emergiu rapidamente como o método diagnóstico de escolha porque proporciona, além do diagnóstico, a identificação do subgênero de *Leishmania*, com resultados confiáveis (Saldarriaga *et al.*, 2016). Já é utilizado nas duas últimas décadas e

demonstra ser o melhor método para confirmação parasitológica (Oliveira *et al.*, 2005). A literatura descreve sensibilidade que varia de 87 a 98% e especificidade entre 84 e 95% (Fagundes *et al.*, 2010; Adams *et al.*, 2014; Ovalle-Bracho *et al.*, 2016), entretanto, foi obtida positividade em 78,6% das análises. O resultado deste estudo pode ter sido influenciado pelo tamanho da amostra (14 pacientes), que pode não ter refletido a sensibilidade média encontrada na literatura, uma vez que foram avaliados apenas pacientes com a forma mucosa da doença, aliado ao fato de que a distribuição dos parasitas na amostra não é homogênea e do parasitismo ser baixo no paciente com LM. Alguns dos resultados da PCR podem ter sofrido, ainda, com a qualidade da amostra enviada, uma vez que dependem da região a ser biopsiada. Outro fator a ser considerado é o tempo da lesão. A chance de encontrar o parasita é inversamente proporcional ao tempo de evolução da lesão, e a sensibilidade do método nos casos produzidos por *L. (V). braziliensis* está em torno de 100% nos dois primeiros meses de evolução, 75% aos seis meses e 20% acima dos 12 meses (Gontijo e Carvalho 2003). Os pacientes com a PCR negativa neste estudo tinham tempo de lesão que variou de 12 a 240 meses. Fagundes *et al.* (2010) encontraram positividade de 93,3% nos testes da PCR em pacientes com LM confirmado por visualização ou isolamento de amastigotas, entretanto, ao avaliar 23 pacientes com lesão sugestiva de LTA no exame anatomopatológico, porém, sem a detecção da forma amastigota neste, encontrou 56,5% de positividade com a PCR. É importante lembrar que a PCR ser negativa não exclui a doença, Fagundes *et al.* (2010) encontraram um valor preditivo negativo de 58,3%. Sendo assim, a PCR, apesar de considerada uma excelente ferramenta diagnóstica, de elevada sensibilidade e especificidade, não deve substituir os outros exames para o diagnóstico de leishmaniose, visto que um protocolo de rotina deve empregar diversos parâmetros, se possível, incluindo outros exames específicos, características clínicas, a IDRM e os aspectos epidemiológicos da história do paciente. Interessante observar neste estudo que, ao se analisar a concordância entre os testes diagnósticos, os testes sabidamente de maior sensibilidade também foram os que apresentaram a maior concordância entre os seus resultados (com índice de Kappa maior), como foi o caso da IDRM com a PCR e a IDRM com o ELISA.

6.2 Aspectos Gerais Relacionados ao Tratamento da LM

O cenário atual do tratamento das leishmanioses no Brasil apresenta características peculiares pela diversidade das espécies do parasito, dos vetores, dos reservatórios e dos ecossistemas. Diversos aspectos devem ser considerados para o manejo terapêutico da LM como custos, efeitos adversos, experiência local e disponibilidade das drogas, principalmente nos países em desenvolvimento (Tuon *et al.*, 2008). A LM apresenta difícil resposta terapêutica, exige doses maiores de drogas e recidiva com mais frequência (Tuon *et al.*, 2007; Brasil, 2010). É, também, mais susceptível às complicações, principalmente infecciosas.

6.2.1 Efeitos adversos

Neste estudo, 75,24% dos pacientes apresentaram algum efeito adverso. As drogas que mais levaram a esses eventos foram a anfotericina B desoxicolato (100%) e a ABCL (92,3%). O itraconazol não levou a nenhum evento adverso e o antimonial foi a droga com a menor frequência deles (68%), quando comparado às demais drogas que desencadearam algum efeito colateral.

É importante ressaltar, entretanto, que apesar da baixa frequência de efeitos adversos, quando o antimonial pentavalente levou a algum evento proporcionalmente significativo neste estudo, este foi potencialmente grave, como as alterações eletrocardiográficas, que ocorreram em 20% dos pacientes que fizeram uso da droga ($p = 0,005$), e as alterações nas enzimas pancreáticas, que ocorreram em 28% ($p < 0,001$). Além disso, estes efeitos foram os principais responsáveis pelos casos de interrupção definitiva com uso desta droga (8 das 11 interrupções). Outros eventos adversos encontrados com uso do antimonial - de maior frequência - foram alterações de enzimas hepáticas, mialgia, náusea e vômito, ocorrendo em 12% dos indivíduos, e

artralgia, em 16%, sendo que apenas esta última apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais drogas ($p= 0,021$). O antimonial se mostrou uma droga segura em relação ao acometimento renal, com nenhum caso de IRA e apenas um caso de distúrbio hidroeletrólítico. A revisão realizada por Oliveira *et al.* (2011) em pacientes com LC também descreve mialgia e artralgia como um dos sintomas mais prevalentes com o uso dos antimoniais, em 48,6% dos indivíduos tratados, e os distúrbios gastrointestinais foram relatados em 17,4%. Tais autores encontraram reações cutâneas em 5,9% dos casos, semelhante a este estudo, que foi em 4% (1/25). Eles, também, não relataram alterações renais significantes. Oliveira *et al.* (2011) descreveram, ainda, as alterações nas enzimas pancreáticas e hepáticas como as alterações laboratoriais mais frequentes com o uso do antimonial, mas, quando estas ocorrem, geralmente são transitórias, com os níveis enzimáticos voltando ao normal após o término do tratamento. As alterações nas enzimas pancreáticas foram mais frequentes do que as alterações nas enzimas hepáticas: na pancreatite variou entre 17,2 e 36,8%, enquanto na hepatite raramente foi descrita. Sua revisão, portanto, apresenta dados semelhantes aos encontrados neste estudo. Dependendo do tipo da alteração no eletrocardiograma, esta esteve presente entre 3,3 e 25% dos indivíduos tratados com antimoniais no estudo de Oliveira *et al.* (2011). O prolongamento do intervalo QT é, geralmente, a alteração eletrocardiográfica mais frequente com o uso do antimonial, e, se não for detectada precocemente, pode levar a uma arritmia fatal. Diante disto, está a importância do monitoramento semanal com ECG e potássio sérico. O tratamento deve ser interrompido se o prolongamento do intervalo QT exceder 450 ms (Lawn *et al.*, 2006). A biorredução do Sb^{+5} para a sua forma trivalente corrobora com outros estudos que evidenciam que a formação *in vivo* do Sb^{+3} seja responsável tanto pela toxicidade da droga quanto pela atividade terapêutica da mesma (Miekeley *et al.*, 2002). Além disso, o fato do antimonial ser rapidamente absorvido e praticamente todo excretado na urina dentro de 48 horas, após a sua administração, faz com que altas doses diárias do fármaco sejam necessárias, a fim de garantir a eficácia do tratamento, o que, dessa forma, contribui para sua toxicidade.

Os eventos adversos mais frequentes relacionados à infusão com o uso da pentamidina foram a flebite (36,4%) seguida por náuseas e vômitos (27,3%) e apenas 1 caso de cefaleia e de astenia (9,1%). A pentamidina provocou proporcionalmente mais alteração na função renal quando comparada aos demais tratamentos ($p= 0,032$), o que levou um dos pacientes à interrupção do tratamento, apesar de nenhum desses casos ter evoluído para IRA. Ocorreu apenas 1 caso de hipoglicemia (9%) e nenhum caso de diabetes *mellitus* entre os 11 tratados com esta droga. Oliveira *et al.* (2011), em sua revisão, encontraram alterações do trato gastrointestinal e astenia em torno de 20% e cefaleia em 15,2%. Reveiz *et al.* (2013) relataram como efeitos adversos mais frequentes dor musculoesquelética, anorexia, dor abdominal, náuseas, vômitos, dor de cabeça, astenia e fadiga. Assim como em nosso estudo, embora a hipoglicemia e diabetes *mellitus* insulínica sejam efeitos adversos esperados (Brasil, 2010), Oliveira *et al.* (2011) observaram hipoglicemia em apenas 2 dos 83 casos (2,4%), sendo um deles grave, e nenhum caso de diabetes foi relatado. Acredita-se que o diabetes *mellitus* pode se manifestar a partir de doses totais de pentamidina superiores a 1 g, e o MS recomenda não ultrapassar 2 g (Brasil, 2010). A dose total administrada em nosso trabalho foi maior que 1 g em 10 dos 11 pacientes, e uma dose maior que 2 g foi utilizada em 6 dos 11 pacientes tratados com a pentamidina. Amato (1997) publicou que a dose de pentamidina para cicatrização da LM em seu estudo variou de 2025 a 4320 mg, e que apenas 1 paciente (5,9%) desenvolveu diabetes *mellitus*. Apesar da alta frequência de eventos adversos gerais neste estudo, a pentamidina parece ser uma droga segura, visto que a maioria dos efeitos adversos foi de fácil manejo e sem gravidade, e, também, pelo fato de observarmos, em relação às demais drogas que cursaram com efeito adverso, a menor frequência de interrupções definitivas, ainda que sem significância estatística neste estudo. Amato *et al.* (2009) não encontraram interrupções definitivas com o uso da pentamidina nos 22 pacientes tratados.

A ABCL destaca-se quando observamos os efeitos adversos relacionados à infusão. Esta droga levou a uma frequência significativamente maior de flebites (46,2%) e de tremores (30,8%) quando comparada às demais ($p= 0,029$ e $p= 0,005$). Outros efeitos adversos relacionados à infusão, também

frequentes, porém sem diferença estatisticamente significativa em relação às demais drogas, foram náuseas e vômitos em 38,5% dos casos, febre e dor torácica em 23,1%. A literatura apresenta taxas mais altas de febre (57,7%) e de calafrios e/ou tremores (79,5%) (Wingard *et al.*, 2000). Essas observações apresentam importante relevância clínica, pois a alta frequência desses efeitos adversos de infusão encontrada com o uso da ABCL (76,92%) foi responsável por uma elevada taxa de interrupção definitiva - 8 dos 13 pacientes que usaram a droga (61,5%) -, o que corroborou para uma baixa taxa de sucesso terapêutico (46,2%). Apenas a anfotericina B desoxicolato apresentou taxa de interrupção maior que a ABCL. Entre as formulações de anfotericina, os estudos também mostram maior frequência de eventos adversos relacionados à infusão com o uso da ABCL. A toxicidade na infusão da anfotericina B desoxicolato está relacionada à liberação do fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa), da interleucina-6 (IL-6) e do antagonista de receptor de interleucina-1 (IL-1-AR) a partir de monócitos e macrófagos. A encapsulação da anfotericina B pela estrutura lipossomal atenua a liberação dessas citocinas (Arning *et al.*, 1995). Em contraste, a remoção rápida de ABCL da circulação pelos tecidos reticuloendoteliais, particularmente no fígado (Kan *et al.*, 1991; Janoff *et al.*, 1993), pode resultar na liberação de citocinas pró-inflamatórias dos macrófagos envolventes e contribuir para os altos índices de efeitos adversos associados à administração de ABCL. Talvez o uso de pré-medicações no início do tratamento, como por exemplo a difenidramina, contribua para a redução dos efeitos adversos de infusão, levando a menos interrupções definitivas e, conseqüentemente, a uma taxa de sucesso um pouco maior. Observou-se, também, com o uso da ABCL, uma alta frequência de distúrbios hidroeletrólíticos (46,2%), ficando novamente atrás apenas da anfotericina B desoxicolato (50%).

A anfotericina B desoxicolato foi a droga com mais eventos adversos gerais (100%), com diferença estatisticamente significativa em relação às demais drogas deste estudo. As reações adversas relacionadas à infusão ocorreram em 50% dos pacientes, sendo as mais frequentes náusea e vômitos em 28,5% dos casos, seguidos por flebite, cefaleia e calafrio em 21,4%, este último sintoma com diferença significativa em relação às demais drogas ($p=$

0,037). Mais da metade dos pacientes que recebeu essa formulação desenvolveu IRA (57,1%). A literatura relata em torno de 50% de nefrotoxicidade com o uso da anfotericina B desoxicolato (Gallis *et al.*, 1990; Wingard *et al.*, 1999). Amato *et al.* (2009) obtiveram 56,7% de interrupções devido à IRA nos 30 pacientes com LM que trataram com anfotericina B desoxicolato. Kevrik *et al.* (2015), em sua revisão, destacaram febre e calafrio entre os efeitos adversos de infusão mais prevalentes na literatura e a nefrotoxicidade e a hipocalcemia entre os efeitos adversos sistêmicos. A alta toxicidade da anfotericina B desoxicolato foi o principal fator responsável pela maior taxa de interrupção definitiva neste estudo, de 85,7% ($p < 0,01$), às custas da toxicidade renal (12 das 14 interrupções) e, conseqüentemente, pela menor taxa de cicatrização entre todas as drogas ($p = 0,001$), de apenas 14,3%.

Entre os pacientes que receberam AFBL, 83,9% manifestaram algum efeito adverso, entretanto, tais efeitos não foram expressivos a ponto de prejudicar a alta taxa de sucesso no tratamento com a AFBL (81,3%). Reações relacionadas à infusão ocorreram em 54,84% (17/31) dos pacientes tratados com AFBL, enquanto valores encontrados na literatura variam de 20-40% para o uso desta droga (Roden *et al.*, 2003; Sundar *et al.*, 2004; Wortmann *et al.*, 2010). Talvez, neste estudo, a frequência um pouco maior para esses eventos relacionados à infusão com o uso da AFBL seja devido ao não uso de difenidramina ou de outras drogas semelhantes, como pré-medicação, ao contrário do que é descrito em alguns trabalhos. O uso de tais medicações não é rotina na enfermagem do presente estudo, o que pode elevar as taxas de reações infusionais, segundo a literatura, para valores até próximos a 65% (Roden *et al.*, 2003). Uma pesquisa em pacientes neutropênicos febris encontrou valor próximo ao deste trabalho, com 51,8% de reações infusionais e sem o uso de pré-medicações (Wingard *et al.*, 2000). Sendo assim, esses dados levam a refletir sobre a necessidade ou não do uso de medicamentos antes da infusão da anfotericina, uma vez que eles podem reduzir para mais da metade a ocorrência de efeitos relacionados à infusão. Por outro lado, tal medida poderia elevar custos, já que nenhum paciente precisou interromper definitivamente o tratamento devido a reações infusionais com o uso da AFBL. Os achados mais frequentes foram a flebite, em 19,4% dos casos, e 12,9%

apresentaram náuseas e vômitos, dor torácica, dor lombar, tremor ou calafrio. Não houve rash cutâneo com o uso da AFBL. Na literatura, a dor torácica é tão ou mais descrita do que a dor lombar, enquanto febre e calafrio variam muito (3-49%) (Wingard *et al.*, 2000; Roden *et al.*, 2003; Wortmann *et al.*, 2010). Uma revisão recente sobre leishmanioses descreveu dor lombar em 2-10%, náusea, vômito ou diarreia em 4-10% e rash cutâneo em 2-15% dos pacientes tratados com AFBL (Murray, 2012).

É importante ressaltar que, neste estudo, o desenvolvimento de IRA só é relatado com o uso das formulações de anfotericina B, porém com uma frequência bem maior no grupo que usou anfotericina B desoxicolato (57,1%). Entre aqueles que usaram AFBL, 35,5% desenvolveram IRA e obtivemos apenas 1 caso no grupo que usou ABCL (7,69%), cuja análise pode ter sido prejudicada pela interrupção precoce devido aos expressivos efeitos adversos relacionados à infusão da ABCL. Há poucos estudos que comparam diretamente a toxicidade das formulações lipídicas, com resultados controversos (Wingard *et al.*, 2010; Safdar *et al.*, 2010; Falci *et al.*, 2015). Wingard *et al.* (2000) avaliaram 78 pacientes neutropênicos febris que usaram ABCL, 85 pacientes que usaram AFBL na dose de 3 mg/kg/dia e 81 que usaram AFBL na dose de 5 mg/kg/dia, e encontraram, significativamente, menos nefrotoxicidade associada com a ambas as doses de AFBL do que com a ABCL: 14.1% e 14.8% contra 42.3%, respectivamente ($p < 0.01$), sugerindo que o aumento da dose de AFBL de 3 mg/kg para 5 mg/kg não interfere na nefrotoxicidade. No presente estudo, observou-se que os pacientes que desenvolveram IRA com o uso da AFBL e interromperam provisoriamente o tratamento, toleraram a retomada do mesmo com doses menores que a inicial, geralmente menores que 3 mg/kg/dia, e sem nova piora da função renal. Essas observações indicam que, talvez, o aumento da dose de 3 para 5 mg/kg/dia possa não levar a uma maior nefrotoxicidade, como descrito por Wingard *et al.* (2000), mas que doses bem menores poderiam proteger contra o aparecimento do dano renal. Já um outro trabalho mostrou que, em comparação com a anfotericina B desoxicolato, as duas formulações lipídicas apresentam menos toxicidade, porém são semelhantes entre si em relação a ocorrência de dano renal moderado, com 3,7% de IRA entre os indivíduos que usaram AFBL e

5,7% entre os tratados com ABCL, $p= 0,547$ (Falci *et al.*, 2015). Os autores observaram, entretanto, em relação à toxicidade renal grave, que os pacientes tratados com ABCL mostraram uma frequência similar àqueles tratados com anfotericina convencional, com frequências de 2,4%, 7,2% e 11,5% para AFBL, ABCL e anfotericina B desoxicolato, respectivamente ($p= 0,046$). Apesar da alta frequência de IRA com o uso da formulação convencional de anfotericina, observou-se na Tabela 9 que não houve diferença significativa entre os casos de IRA entre quem usou AFBL e quem usou anfotericina B desoxicolato ($p= 0,173$), e quando analisadas em conjunto as formulações lipídicas, também não se encontrou diferença significativa entre os grupos. No entanto, o valor de p , neste caso, se aproximou muito de 0,05 ($p= 0,056$), e talvez uma amostra com mais pacientes poderia confirmar a maior associação de IRA com o uso da anfotericina B desoxicolato em relação à AFBL e às formulações lipídicas, o que já é bem descrito na literatura (Walsh *et al.*, 1999; Amato *et al.*, 2007a, 2008, Falci *et al.*, 2015). Em uma recente coorte retrospectiva, por exemplo, a frequência de IRA foi de 3,7% entre os indivíduos que usaram AFBL, 5,7% entre os tratados com ABCL e de 23,6% entre os que usaram anfotericina B desoxicolato ($p< 0,001$). (Falci *et al.*, 2015). Alguns trabalhos, na literatura geral, demonstram uma frequência de nefrotoxicidade um pouco maior da AFBL, que varia entre 14,1 e 18,7% (Walsh *et al.*, 1999; Wingard *et al.*, 2000), e, um recente trabalho, que abordou apenas pacientes com LM, descreveu IRA em 17,2% dos tratados com AFBL (Cunha *et al.*, 2015). Wortmann *et al.* (2010) avaliaram 19 pacientes com LC, tratados com AFBL, e encontraram 45% de nefrotoxicidade, e Guery *et al.* (2017) 35%, valores semelhantes ao deste estudo. A ABCL apresentou variações de nefrotoxicidade entre 33,7 e 42,3%, e a anfotericina B desoxicolato entre 49 e 70% (Cagnoni, 2002; Deray *et al.*, 2002; Amato *et al.*, 2009). Os distúrbios hidroeletrólíticos ocorreram em 38,7% dos indivíduos que usaram AFBL e a hipomagnesemia foi mais frequente do que a hipocalemia. Dos pacientes que receberam anfotericina B desoxicolato 50% apresentaram alterações hidroeletrólíticas, sendo que todos desenvolveram hipocalemia. Já foi demonstrado na literatura que a AFBL, além de menos IRA, também promove menos hipocalemia do que a anfotericina B desoxicolato (Walsh *et al.*, 1999, Kevrik *et al.*, 2015).

Este estudo demonstra uma frequência de IRA próxima a encontrada por Wortmann *et al.* (2010) e Guery *et al.* (2017) com o uso da AFBL. Analisou-se, portanto, se alguma variável – como idade, sexo, etnia, clearance de creatinina e tratamento prévio no último mês - poderia contribuir para facilitar ou desencadear IRA ou algum outro efeito adverso sistêmico relevante em nosso estudo, como as alterações da função renal, das enzimas pancreáticas e as alterações eletrocardiográficas. A única associação encontrada foi no grupo que recebeu AFBL, onde aqueles indivíduos que receberam algum tratamento prévio desenvolveram menos IRA do que aqueles sem tratamento prévio, entretanto, por este ser um estudo exploratório, pode fornecer resultados falso-positivos. Em relação aos demais efeitos adversos não houve associação com nenhuma dessas variáveis. Possivelmente, os efeitos adversos avaliados tenham uma relação mais íntima com a toxicidade intrínseca da própria droga do que com fatores do hospedeiro. Falci *et al.* (2015), por meio de análise multivariada, com 326 pacientes, demonstraram que a AFBL foi considerada um fator de proteção independente (OR: 0,18; IC 95% [0,03-0,64]; $p=0,006$) para nefrotoxicidade grave, considerando anfotericina B desoxicolato como referência. Eles avaliaram sexo, idade, HAS, DM, uso de droga nefrotóxica prévia e outras variáveis como peso, nefropatia prévia e duração do tratamento, e nenhuma delas foi preditora de nefrotoxicidade. Apenas o uso concomitante de drogas nefrotóxicas durante o tratamento com as anfotericinas foi um fator significativo para toxicidade renal ($p=0,027$). Alvarez-Lerma *et al.* (2012) não encontraram impacto significativo do uso da AFBL em pacientes críticos de UTI com creatinina maior que 1,5 g/dl em relação ao grupo controle com função renal normal, e Wingard *et al.* (2000) não encontraram relação da nefrotoxicidade com o aumento da idade.

O itraconazol mostrou-se uma droga segura neste estudo. Não houve relato de eventos adversos com o uso desta medicação. Nos estudos, em geral, os eventos adversos não são relatados sistematicamente e nem de maneira padronizada pelos autores. A maior revisão da literatura, até o momento, com o uso de azóis no tratamento da leishmaniose tegumentar, mostra uma baixa taxa de eventos adversos com esta classe de medicamentos, de 11%, sendo ela de 7% entre os pacientes tratados com

fluconazol, de 12% nos tratados com itraconazol e de 13% nos tratados com cetoconazol, sem diferença estatisticamente significativa entre elas (Galvão *et al.*, 2017). Os eventos adversos mais frequentemente relatados como razões para a interrupção da terapia com azóis foram as elevações de enzimas hepáticas, dor epigástrica, náuseas e vômitos, aumento da creatinina, dores de cabeça, erupções cutâneas e icterícia (Galvão *et al.*, 2017). Ao avaliar estudos que abordaram apenas pacientes com LM, entre 38 tratados com itraconazol não houve relato da ocorrência de efeito adverso (Amato *et al.*, 2000b; Calvopina *et al.*, 2004; Amato *et al.*, 2009).

6.2.2 Interrupção de tratamento

Assim como em neste estudo, a literatura também mostra mais interrupções com a formulação convencional de anfotericina do que com as formulações lipídicas. Encontrou-se cerca de 85% de interrupção do tratamento com o uso da anfotericina B desoxicolato, enquanto outros estudos também demonstram uma taxa alta de interrupção, entre 50 e 60%, devido ao desenvolvimento de IRA (White *et al.*, 1998; Cagnoni, 2012; Amato *et al.*, 2009). Em relação às formulações lipídicas, foram encontradas, proporcionalmente, quase 2 vezes mais interrupções com o uso da ABCL do que com a AFBL, semelhante a Wingard *et al.* (2000), que encontraram quase 2,5 vezes mais interrupções com a ABCL, fruto de elevadas taxas de eventos adversos relacionados à infusão. A taxa de interrupção com o uso da AFBL foi em torno de 30%, maior do que os valores geralmente descritos na literatura, que variam entre 0 e 20% (Cunha *et al.*, 2015; Cobo *et al.*, 2016; Guery *et al.*, 2017), e foram obtidas taxas menores de interrupção com o uso do antimonial em relação a alguns trabalhos, 44% versus 65%, respectivamente (Solomon *et al.*, 2013). Observou-se que as drogas com mais efeitos adversos (anfotericina B desoxicolato e ABCL), foram as que levaram a mais interrupções definitivas no tratamento. Esses, portanto, são efeitos adversos relevantes para o paciente, seja clinicamente e/ou laboratorialmente, como os intensos efeitos

relacionados à infusão com o uso da ABCL e o desenvolvimento de IRA com o uso da anfotericina B desoxicolato. A exceção, como vimos, é o antimonial pentavalente, que apesar de causar menos efeitos adversos do que a pentamidina e a AFBL, levou a mais interrupções definitivas do que essas últimas, possivelmente pela ocorrência de mais efeitos adversos potencialmente graves, como as alterações eletrocardiográficas e a pancreatite. Não houve interrupção provisória com o uso do antimonial. O uso do itraconazol não levou a eventos adversos e, conseqüentemente, a nenhum caso de interrupção de tratamento.

Entre os pacientes que usaram AFBL neste estudo, 58,1% (18/31) pacientes precisaram interromper o tratamento em algum momento, entretanto, quase metade destas interrupções - 44,4% (8/18) - foram provisórias. Parece que os efeitos adversos relacionados à infusão com o uso da AFBL são bem tolerados quando manejados com sintomáticos, visto que as causas da alta taxa de interrupção provisória (25,8%) em relação às demais drogas ($p=0,03$) deveu-se, exclusivamente, a reações adversas sistêmicas, como as alterações da função renal ou o desenvolvimento de IRA. Tais efeitos, entretanto, foram atenuados e até revertidos com a suspensão provisória da droga por um curto período de tempo (média de 3 dias), retomando-a em poucos dias, com uma dose menor. Em relação às interrupções definitivas, encontrou-se uma taxa de 32,3% (10/31), sendo que 9 destes pacientes apresentaram toxicidade renal, portanto, essa é uma droga que ainda necessita de rigoroso acompanhamento clínico e laboratorial. Vale ressaltar que, mesmo apresentando uma incidência notável de IRA, a AFBL apresentou uma baixa taxa de interrupção definitiva por efeito adverso quando comparada às taxas das demais drogas do estudo, com significância estatística. Essas interrupções não significaram um desfecho ruim, visto que a AFBL também foi a droga com menos interrupções definitivas sem sucesso terapêutico ($p<0,001$), possivelmente porque os pacientes alcançaram uma dose eficaz para controlar a doença no momento em que interromperam o tratamento. Dos 10 pacientes que interromperam definitivamente o tratamento, apenas 2 não obtiveram sucesso terapêutico, possivelmente porque uma dose final cumulativa muito baixa, que não

alcançou sequer 20 mg/kg (dado não mostrado), possa ter contribuído para este desfecho desfavorável.

6.3 Aspectos Relacionados ao Desfecho do Tratamento da LM

Após o tratamento da LM espera-se a cicatrização completa da lesão como o desfecho de sucesso. Não é prudente afirmar que tais pacientes evoluem para a cura da LM, uma vez que Amato *et al.* (2003a) encontraram persistência da citocina TNF- α no meio extra-celular e de antígenos de *Leishmania* anos após as lesões estarem cicatrizadas. O tratamento parece apenas modular a resposta imune (Tuon *et al.*, 2007). Os pacientes que completaram o tratamento proposto e evoluíram com falha ou recidiva são aqueles considerados sem sucesso terapêutico, assim como aqueles que interromperam o tratamento sem evoluir para a cicatrização da lesão. Este trabalho demonstrou que a LM é uma doença de difícil tratamento, uma vez que se observou uma taxa de cicatrização final de apenas 57,1% ao avaliar todos os tratamentos disponíveis no serviço do HC-FMUSP. Possivelmente, a toxicidade de algumas drogas, como a da anfotericina B desoxicolato, da ABCL e do antimonial pentavalente, foi um dos fatores mais relevantes para esse fato, visto que levou a altas taxas de interrupção definitiva sem sucesso terapêutico nesses grupos. Neste estudo, o itraconazol demonstrou uma baixa eficácia no tratamento da LM, mesmo sem desencadear efeitos adversos, haja vista a alta taxa de recidiva. A anfotericina B desoxicolato se mostrou a droga mais tóxica e a AFBL a droga mais eficaz, mesmo quando esta evoluiu com interrupções.

6.3.1 Análise dos principais desfechos em relação às drogas usadas na LM

O antimonial pentavalente continua a ser a droga de primeira linha no tratamento da LM em muitos países, apesar da resposta terapêutica variada e

dos consideráveis índices de falha e de recorrência já descritos, além dos riscos de efeitos colaterais potencialmente graves. A taxa de cura varia amplamente na literatura, de 30% a 90% (Franke *et al.*, 1990; Oliveira-Neto *et al.*, 1997, 2000; Romero *et al.*, 1998, Rodrigues *et al.*, 2006), com eficácia média de 88% segundo Amato *et al.* (2008). Sendo assim, alguns aspectos devem ser destacados em relação aos resultados do tratamento da LM com antimoniais: os esquemas posológicos utilizados nos diversos estudos são variados, essa medicação produz resultados não homogêneos em diferentes regiões geográficas, as estruturas químicas desses compostos não estão completamente caracterizadas e não há segurança no que se refere à padronização do conteúdo de Sb^{+5} em cada lote do antimoniato de N-metilglucamina (Romero *et al.*, 1996). Este estudo encontrou 58,3% de sucesso terapêutico com o uso do antimonial. Alguns trabalhos mostram cura clínica entre 71% e 77% dos casos (Scope *et al.*, 2003; Bermudez *et al.*, 2006; Llanos-Cuentas *et al.*, 2008; Tuon *et al.*, 2008) e outros, realizados na década de 90, com o uso do antimonial pentavalente em esquemas contínuos, descreveram índices entre 63 e 75% (Franke *et al.*, 1990; Saenz *et al.*, 1991; Herwaldt e Berman, 1992). Um outro fator a ser considerado para a análise dos resultados com menor eficácia seria o agente causal, pela possibilidade de menor suscetibilidade ou mesmo de resistência primária desses protozoários aos antimoniais, achado já descrito por Grogl *et al.* (1992). Os dados de menor eficácia são encontrados na literatura com o uso do estibogluconato de sódio (Pentostam®), antimonial pentavalente usado em países de língua inglesa. Franke *et al.* (1990) utilizaram tal fármaco na posologia atualmente recomendada pela OMS, ou seja, 20 mg/kg/dia de Sb^{+5} , por 4 semanas, em 29 pacientes, e verificaram que ao final do tratamento 18 (62%) pacientes estavam curados. Entretanto, em nova avaliação realizada doze meses após o término da terapêutica, constataram que havia ocorrido recidiva em dez dos doentes inicialmente tidos como curados, ou seja, sucesso terapêutico final em 27,6% dos pacientes. O estibogluconato e a N-metilglucamina são preparados por meio de uma reação do antimônio pentavalente com o ácido glucônico e a N-metil-D-glucamina, respectivamente. A eficácia clínica do estibogluconato parece ser influenciada por sua composição. Alguns lotes de fármaco tem sido

associados com má resposta clínica (Roberts *et al.*, 1998), entretanto, uma meta-análise de 2008 mostrou resultado semelhante (76,5%) com ambos os tratamentos (Tuon *et al.*, 2008). A recorrência com o uso dos antimoniais está em torno de 22% (Amato *et al.*, 2008, 2009); este estudo mostrou uma taxa de 8,3%, mas quando avaliados apenas os pacientes que cicatrizaram, assim como na análise dos artigos citados, a recidiva foi de 12,5%. O valor um pouco abaixo do encontrado na literatura pode ter ocorrido pelo fato de que se obteve uma taxa moderada de interrupções sem sucesso terapêutico neste estudo (29,2%), o que, dessa forma, interfere na avaliação das recidivas, já que, segundo a análise descrita acima, depende da cicatrização da lesão. A única falha de tratamento encontrada neste trabalho foi com o uso do antimonial, porém em apenas um paciente (4,2%). Relatos de taxas maiores de falha ocorrem na literatura; foi observada falha de 16% no Brasil, e pode chegar a 30,4% no Novo Mundo quando a espécie envolvida é a *L.(V.) brasiliensis* (Oliveira-Neto *et al.*, 1997; Arevalo *et al.*, 2007). Uma possível explicação para a diferença de valores em relação a este estudo pode ser o fato de que a interrupção por efeito adverso não foi considerada uma falha, e sim o paciente que concluiu o tratamento sem a cicatrização dentro dos seis meses que sucederam à terapia. Outra possibilidade é que boa parte dos trabalhos com falhas de tratamento fez uso de doses sub-terapêuticas (<10 mg/kg/dia) do antimonial ou realizou um tratamento por período mais curto do que o recomendado, ou, ainda, porque o paciente não pôde ultrapassar a dose máxima de três ampolas quando o seu peso foi superior a 68 kg (Rodrigues *et al.*, 2006).

A pentamidina e a anfotericina B são consideradas drogas de segunda escolha em não gestantes, quando não se obtém resposta ao tratamento com antimonial ou há alguma contraindicação a este (Brasil, 2010). As pentamidinas apresentam eficácia em torno de 90% e recorrências em 25% dos casos tratados (Amato *et al.*, 1998b, 2007a, 2008, 2009). Foi encontrada uma eficácia maior da pentamidina em relação ao antimonial pentavalente, de 72,7% (8/11) e 58,3% (14/24) respectivamente, porém sem diferença estatisticamente significativa, $p=0,478$ (dado não mostrado). Amato *et al.* (2007b) também não encontraram diferença nas taxas de cura entre as duas drogas, $p=0,68$. A taxa

de recidiva da pentamidina foi próxima a 20%, semelhante aos resultados da literatura, também sem diferença em relação ao antimonial, $p=0,575$ (dado não mostrado). A pentamidina, entretanto, neste estudo, parece ser uma droga mais segura do que o antimonial, visto que o evento adverso mais significativo foi a alteração da função renal, mas sem o desenvolvimento de IRA, enquanto o antimonial apresentou mais interrupções definitivas sem sucesso terapêutico devido a eventos adversos mais relevantes, como alterações no eletrocardiograma e alterações de enzimas pancreáticas, apesar de não se observar diferença significativa entre as duas drogas para este desfecho, $p=0,387$ (dado não mostrado). Amato *et al.* (2009) também encontraram menos toxicidade com o uso da pentamidina: não houve interrupções nos 22 pacientes tratados em seu estudo com esta droga, enquanto 12,3% dos 73 pacientes tratados com antimonial pentavalente interromperam o tratamento da LM. Dessa forma, mais estudos comparativos entre essas duas drogas, com foco principal na toxicidade, reforçariam a opção pela pentamidina, uma droga eficaz, de custo acessível, aparentemente menos tóxica que o antimonial, como primeira linha no tratamento da LM, enquanto não se dispõe de medicamentos de uso oral com eficácia semelhante.

A anfotericina B desoxicolato apresenta eficácia de 82%, com recorrência de 7%, e seu índice de sucesso terapêutico está relacionado à descontinuidade do tratamento por nefrotoxicidade associada à droga (Amato *et al.*, 2007a, 2009). No presente estudo obteve-se cicatrização da lesão em apenas 14,3% dos pacientes tratados, a menor taxa de sucesso entre todas as opções terapêuticas, também devido à nefrotoxicidade. A sua taxa de interrupção sem sucesso terapêutico foi maior quando comparada às outras drogas (Tabela 15, $p<0,001$). A literatura também tem mostrado a anfotericina B desoxicolato como uma droga extremamente tóxica (White *et al.*, 1998; Cagnoni, 2012; Amato *et al.*, 2009), o que torna seu uso limitado, apesar de produzir pequeno número de recidivas e de ter melhor ação sobre as lesões mucosas quando comparada aos antimonials (Furtado, 1961; Castro, 1972; Singer *et al.*, 1975). Não foi possível avaliar a taxa de recidiva real neste estudo com o uso da anfotericina B desoxicolato em função da grande quantidade de pacientes que não conseguiu concluir o tratamento.

A ABCL também apresentou, assim como a anfotericina B desoxicolato, uma baixa eficácia por conta dos efeitos adversos, neste caso, por efeitos agudos relacionados à infusão, mas que também foram limitantes ao tratamento. A taxa de sucesso em LV com o uso da ABCL está entre 79 e 100% (Goldsmith e Perry, 2004), entretanto, estudos relacionados à LM com formulações lipídicas são escassos, e indicam uma taxa de sucesso global maior que 90% (Amato *et al.*, 2007b). Ainda não há estudos que comparem as três formulações lipídicas entre si, nem há descrição na literatura da experiência com o uso da ABCL no tratamento da LM. Estudos envolvendo apenas a ABDC no tratamento da LM mostram eficácia entre 88 e 100%, estudos com 9 e 5 pacientes, respectivamente (Amato *et al.*, 2007a, 2009). Este é o primeiro estudo envolvendo ABCL no tratamento da LM, e mostrou uma taxa de sucesso limitada a 46,2% (6/13) e recidiva em 7,7% dos pacientes tratados, com alta taxa de interrupção definitiva (61,5%). Talvez o uso de pré-medicações seja crucial para se obter melhores taxas de cicatrização, visto que, quando avaliados apenas os pacientes que conseguiram concluir o tratamento, obteve-se uma taxa de sucesso de 85,7% (6/7), com 1 caso de recidiva. Quando comparadas as duas formulações lipídicas em conjunto, estas demonstram um melhor desfecho de tratamento, com mais cicatrização e menos interrupções sem sucesso terapêutico em relação à formulação convencional de anfotericina (Tabela 18, $p < 0,001$). Possivelmente, o resultado significativamente favorável às formulações lipídicas, neste estudo, deveu-se, principalmente, à menor toxicidade da AFBL em relação às demais anfotericinas.

Apesar de ter se mostrado uma opção terapêutica muito segura no tratamento da LM, o itraconazol apresentou baixa eficácia (36,4%). Uma recente revisão sobre o uso de azóis no tratamento da leishmaniose cutaneomucosa descreveu uma taxa de eficácia combinada de 50%, semelhante entre os diferentes braços: 37% para o cetoconazol e 61% para o fluconazol e o itraconazol ($p = 0,89$), e que variou de acordo com a espécie de *Leishmania*, com piores respostas para *L. braziliensis* 49% e *L. tropica* 15% (Galvão *et al.*, 2017). Os resultados, entretanto, quando abordado tratamento com azóis apenas para a forma mucosa, são muito discrepantes, e envolvem

apenas 3 estudos publicados até o momento. Foram 38 pacientes descritos, com uma eficácia de 52,6%, que variou de 23 a 73,3% (Amato *et al.*, 2000b; Calvopina *et al.*, 2004; Amato *et al.*, 2009). O Itraconazol foi o azol escolhido para tratamento em todos esses estudos, que avaliaram exclusivamente pacientes com a forma mucosa da leishmaniose. Sua melhor biodisponibilidade e capacidade para obter maiores concentrações nos tecidos, inclusive mucosas, em comparação com os outros azóis, pode explicar esta escolha (Larosa *et al.*, 1986; Heykants *et al.*, 1989). Enquanto as demais opções de tratamento para LM apresentaram baixa taxa de recidiva, menores ou iguais a 20%, mais da metade dos pacientes que usaram itraconazol, neste estudo, recidivaram - 7 dos 11 (63,6%), $p < 0,001$ -, o que contribuiu para a baixa taxa de cicatrização final. Amato *et al.* (2009) publicaram o único trabalho que avaliou recidiva com o uso do itraconazol na LM, encontrando 18%. Um maior tempo de seguimento neste estudo (mediana de 28 meses) possa, talvez, ter contribuído para essa diferença na taxa de recidiva.

Dados sobre a AFBL tem sido publicados na literatura desde 1990, e em 1997 o FDA aprovou seu uso na leishmaniose visceral. Em relação à eficácia da droga no tratamento da LTA foram encontrados valores em torno de 84% a 85% (Solomon *et al.*, 2007; Amato *et al.*, 2007a, 2009, 2011; Wortmann *et al.*, 2010; Solomon *et al.*, 2013), e 3% de falha terapêutica foi vista no estudo de Solomon *et al.* (2013) ao analisarem 34 pacientes. Os estudos publicados sobre o tratamento da LM com AFBL apresentam um número muito pequeno de pacientes avaliados, e relatam alta eficácia, entre 83,3 e 100% (Sampaio e Marsden, 1997; Nonata *et al.*, 1997; Amato *et al.*, 2000, 2009 e 2011; Abbas *et al.*, 2009). Dois estudos mais recentes, que avaliaram grupos maiores de pacientes, encontraram uma eficácia que variou de 88% a 93,1% (Rocio *et al.*, 2014; Cunha *et al.*, 2015). Este trabalho contempla a maior série de casos até o momento, com 32 pacientes tratados, e demonstrou eficácia de 81,3% (26/32). Não se encontraram falhas e, apesar da frequência de eventos adversos e de interrupções, quase metade destas foram provisórias e possibilitaram a retomada e a conclusão do tratamento. Além disso, obteve-se apenas 6,3% (2/32) de interrupções definitivas sem sucesso terapêutico ($p < 0,001$), possivelmente porque estes pacientes alcançaram uma dose

suficiente para a cicatrização no momento da interrupção. A recorrência na LM é mais frequente (7,5%) do que na forma cutânea (4,3%) e, geralmente, é tardia (Brasil, 2010). A permanência de parasitas e da resposta inflamatória no tecido, mesmo após a cicatrização, traz a possibilidade de recidivas, principalmente se houver algum grau de imunossupressão (Iborra *et al.*, 1998; Amato *et al.*, 2003a; Motta *et al.*, 2003; Tuon *et al.*, 2007). A recidiva entre os pacientes que concluíram o tratamento com AFBL neste estudo foi de 12,5% (4/32), semelhante à taxa encontrada por Guery *et al.* (2017), ao avaliarem 7 pacientes com LM e tratados com AFBL. Sampaio e Marsden (1997) demonstraram uma taxa de recorrência de 16,67% (1/6) após 6 meses do tratamento, e Cunha *et al.* (2015) relataram recidiva em apenas 6,9% (1/29), sem especificação do tempo de seguimento. Talvez o tempo de acompanhamento dos pacientes após o tratamento possa ter influenciado o resultado de Cunha *et al.* (2015). A mediana de tempo de seguimento do presente estudo foi de 24,5 meses, e o tempo de seguimento até o aparecimento da recidiva variou, nos 4 pacientes recidivantes, de 10 a 51 meses (dado não mostrado).

Este estudo também é o primeiro a comparar a AFBL com as outras drogas usadas em LM. Inicialmente, foram comparados os resultados da AFBL com os resultados de todos os demais tratamentos conjuntamente. Encontrou-se quase 5 vezes mais cicatrização no grupo que usou AFBL (OR= 4,971 IC 95% [1,829-13,508], $p= 0,001$) e 87,9% menos interrupções sem sucesso (OR= 0,121 IC 95% [0,027-0,545], $p= 0,002$). Comparou-se, ainda, os resultados do tratamento de cada droga com os resultados do uso da AFBL, e foi encontrada menor taxa de cicatrização com o uso da anfotericina B desoxicolato, da ABCL e do itraconazol ($p < 0,001$, $p= 0,030$, $p= 0,009$, respectivamente), e mais interrupções sem sucesso terapêutico com o uso do antimonial pentavalente, da anfotericina B desoxicolato e da ABCL em relação ao uso da AFBL ($p= 0,030$, $p < 0,001$ e $p= 0,004$, respectivamente). Apesar de não se obter significância estatística, encontrou-se 81,3% de cicatrização com o uso da AFBL e 58,3% com o uso do antimonial pentavalente ($p= 0,06$). A literatura também mostra as anfotericinas com uma melhor eficácia em relação ao antimonial pentavalente, com taxas que variam de 63 a 79,5% para esta última

droga, quando usadas as doses recomendadas pela OMS e considerando a intenção de tratamento (Saenz *et al.*, 1991; Amato *et al.*, 2009). As taxas de interrupção por efeito adverso foram semelhantes, entretanto, com desfecho menos favorável para as interrupções com o uso do antimonial ($p= 0,030$). As demais formulações de anfotericina B demonstraram toxicidade maior e, portanto, menor cicatrização e mais interrupções sem sucesso terapêutico quando comparadas à AFBL. A pentamidina foi a única droga que não demonstrou diferença nas taxas de cicatrização ou de interrupção sem sucesso terapêutico em relação à AFBL ($p= 0,672$ e $p= 1,000$, respectivamente), mostrando-se uma excelente opção terapêutica na LM junto à AFBL. Outros estudos com altas doses de pentamidina já mostram alta eficácia e poucos efeitos adversos com essa droga no tratamento da LM, o que a torna uma boa opção terapêutica, apesar da frequência um pouco maior de recidivas (Amato *et al.*, 1998b, 2009). O itraconazol, entretanto, foi o único tratamento que demonstrou mais recidivas, com significância estatística, em relação à AFBL neste estudo ($p= 0,002$, OR= 12,25, IC 95% [2,438-61,563]). A literatura ainda é controversa acerca das recidivas com o uso da AFBL; Amato *et al.* (2009) também encontraram taxas de recidiva com o uso do antimonial pentavalente e da pentamidina próximas à taxa de recidiva com o uso da AFBL, enquanto Cunha *et al.* (2015) obtiveram uma taxa de recidiva bem menor com o uso da AFBL. Quando comparados os desfechos de cada droga individualmente com a AFBL, fragmentou-se a análise, e, portanto, o tamanho da amostra foi reduzido, o que pode ter contribuído para o amplo intervalo de confiança observado, especialmente nos grupos da anfotericina B desoxicolato, da ABCCL e do itraconazol. Apesar disso, trata-se de um estudo com a maior casuística conhecida na literatura envolvendo o uso da AFBL, e é o primeiro a compará-la com as demais drogas no tratamento da LM.

6.3.2 Perfil dos pacientes que cicatrizaram após o tratamento da LM

Descreveu-se, ainda, o perfil dos pacientes que cicatrizaram após o tratamento da LM, e foi verificado se alguma característica teria influência neste

desfecho. Entre os 105 pacientes tratados neste estudo, a idade e o número de sítios acometidos não foi diferente entre o grupo que cicatrizou e o grupo que não cicatrizou. Não houve, também, diferença de sexo, de etnia e em relação ao tratamento prévio entre todos indivíduos que cicatrizaram e os que não cicatrizaram. Quando avaliadas as drogas separadamente, observou-se significância apenas no grupo que recebeu o antimonial pentavalente; ser do sexo feminino e não caucasiano esteve associado a uma maior cicatrização ($p= 0,047$ e $p= 0,033$, respectivamente). Mais estudos abrangendo estas variáveis ajudariam a esclarecer este achado, haja visto o tamanho da amostra, que foi fragmentada para a análise de cada droga individualmente. Guery *et al.* (2017) avaliaram preditores de sucesso em pacientes com leishmaniose cutânea e mucosa tratados com AFBL. A análise univariada que abrangeu as variáveis idade, forma cutânea localizada, forma mucosa, local de aquisição (Novo Mundo e Velho Mundo), paciente ser imunodeprimido, número de lesões e dose cumulativa, demonstrou que o local de aquisição da infecção esteve associado à eficácia da AFBL, com maior cicatrização nos indivíduos com infecção adquirida no Velho Mundo ($p < 0,05$). Estar infectado com a *L. infantum* se aproximou, mas não o bastante para alcançar significância ($p= 0,057$). Nenhum outro fator clínico ou biológico esteve associado ao sucesso de tratamento com a AFBL. Na análise multivariada, apenas a infecção por *L. infantum* esteve associada a maior cicatrização com o uso da AFBL (OR= 5.8 IC 95% [1,03±32]). Talvez a espécie envolvida, a resposta imune do hospedeiro, a droga utilizada e sua dose sejam realmente os únicos fatores determinantes para a resposta do indivíduo ao tratamento da LT com o uso da AFBL.

6.3.3 Avaliação da relação custo e eficácia com o uso da AFBL

Apesar de já demonstrada sua alta eficácia e a redução na incidência de IRA em relação às demais anfotericinas, a principal dificuldade de implementação da AFBL na rotina de Saúde deve-se ao seu alto custo

(Cagnoni, 2002; Sundar et al., 2004). No Brasil, até 2008, o tratamento com a AFBL variava de US\$ 8,000 a US\$12,000, enquanto o tratamento com o antimonial custava aproximadamente US\$176,55 (Amato et al., 2007b). Os estudos de custo e eficácia realizados até o momento são controversos. Solomon et al. (2007) demonstraram que, pelo menos na leishmaniose cutânea, o gasto total do tratamento com AFBL foi 45% menor do que com o estibogluconato de sódio em pacientes internados e 15% menor em pacientes ambulatoriais. Quando ocorre falência renal com o uso da anfotericina B convencional, o tempo de internação se prolonga em cerca de 8,2 dias e há um aumento de custo significativo. (Bates et al., 2001). Após um acordo do laboratório produtor da AFBL com a OMS, entretanto, houve uma redução do custo unitário deste medicamento para a compra por países em desenvolvimento, entre os quais o Brasil está incluído. O valor atual da ampola de AFBL adquirida pelo MS é de, aproximadamente, R\$ 59,65. Dessa forma, novos estudos comparativos sobre os custos de tratamento da leishmaniose devem ser conduzidos, além de se estabelecer uma dose padrão com o uso da AFBL na LM, para facilitar a análise de custo-benefício da droga.

6.3.4 Dose da AFBL

O tempo de internação com o uso da AFBL neste estudo teve mediana de 20 dias, com uma dose diária média de 2,65 mg/kg/dia. As doses acumuladas ao final do tratamento foram em média 1907 mg e 28,91 mg/kg e a eficácia 81,3%. Cunha *et al.* (2015) encontraram, ao usar uma dose cumulativa final média de 32 mg/kg, eficácia de 93,1%. Ainda não há uma definição sobre qual a dose ideal de AFBL para o tratamento da LM. A literatura, com escassez de dados, mostra uma dose acumulada para o tratamento de LM que varia de 2000 a 5300 mg, e uma média de 2781,8 mg (Sampaio; Marsden, 1997; Amato *et al.*, 2009, 2011). Uma revisão americana sugere que uma dose de 20 a 35 mg/kg possa ser eficaz para a LM, mas devido a estudos pouco consistentes, não chega a propor um esquema terapêutico (Murray *et al.*, 2012). Para o

tratamento de pacientes coinfectados com HIV, devido aos riscos de disseminação e de falha terapêutica (de Souza e Souza *et al.*, 1998; Alvar *et al.*, 2008), há uma tendência para o uso de doses maiores. O primeiro caso de tratamento de leishmaniose mucosa em paciente infectado pelo HIV foi relatado por Amato *et al.* (2000) e, como na época também não havia uma dose ideal estabelecida para o tratamento, especialmente em pacientes coinfectados, os autores optaram por uma dose mais elevada: utilizaram a dose cumulativa de 12800 mg com sucesso.

No presente estudo, tentou-se avaliar uma dose eficaz de AFBL para o tratamento da LM em pacientes sem doença imunossupressora; foram retirados da análise os pacientes sem sucesso terapêutico, a fim de se obter uma dose final que apresentaria, portanto, uma eficácia de 100%. Essa dose, que demonstrou cicatrização em todos os pacientes, apresentou uma média de 1917,88 mg e de 29,27 mg/kg, porém, não houve diferença em relação à média da dose entre os pacientes que não cicatrizaram: 1860,83 e 27,33 mg/kg ($p=0,746$). Dos 8 pacientes que receberam dose cumulativa ao final do tratamento menor que 20 mg/kg, 75% obtiveram sucesso, sendo 2 pacientes com interrupção sem sucesso e nenhum caso de recidiva. Este fato faz pensar se doses menores poderiam ser usadas no tratamento da LM. Guery *et al.* (2017), porém, descreveram 43 pacientes com leishmaniose tegumentar tratados com AFBL, sendo 7 casos de LM, e relataram apenas 57,1% (4/7) de cicatrização nestes pacientes, com 2 falhas e 1 recidiva. A mediana de dose final por eles relatada foi de 20 mg/kg, mas os autores não detalharam quais foram as doses nos casos dos pacientes com LM. Cobo *et al.* (2016) obtiveram 1 falha entre os 5 pacientes tratados com a AFBL para LM, e este paciente sem sucesso terapêutico usou uma dose cumulativa final muito baixa, de 1000 mg. Doses maiores que 20 mg/kg parecem ter um desfecho melhor no tratamento da LM. Um outro estudo, que usou dose cumulativa de AFBL entre 20 e 25 mg/kg, encontrou, em 6 pacientes avaliados, 83,3% de sucesso - devido a 1 caso de recidiva (Cunha *et al.*, 2015). Esse mesmo estudo, ao avaliar uma dose cumulativa maior que 25 mg/kg em 22 pacientes, encontrou 100% de sucesso terapêutico. Vale ressaltar que 15 desses pacientes (68,2%) receberam dose maior ou igual a 30 mg/kg.

No presente estudo, ao se avaliar apenas os pacientes que usaram uma dose cumulativa final maior que 25 mg/kg, obteve-se, em 23 pacientes, 82,6% de sucesso, sendo que 17 desses (73,9%) usaram dose final acima de 30 mg/kg. Ao se analisar este estudo conjuntamente ao de Cunha *et al.* (2015), dos 7 pacientes que recidivaram, 3 usaram uma dose final maior ou igual a 35 mg/kg, 2 usaram uma dose entre 20 e 30 mg/kg e 1 usou dose final menor que 20 mg/kg. É provável que doses maiores que 20 mg/kg sejam importantes para uma melhor resposta no tratamento da LM, e que doses acima de 30 mg/kg sejam responsáveis pelas taxas de sucesso mais elevadas, enquanto as taxas de recidiva parecem resultar, principalmente, da relação parasita-hospedeiro após cicatrização da lesão. Dessa forma, sugerimos um intervalo de 30 a 35 mg/kg para uma eficácia próxima a 100%, o que facilita a prática clínica, já que é um intervalo menor que o proposto pela OMS, de 40 a 60 mg/kg (WHO, 2010). Dessa forma, seria possível reduzir a toxicidade com o uso da droga e os custos do tratamento, e facilitar, portanto, sua implementação nos serviços de saúde. Estudos prospectivos com grupo controle, randomizados e controlados, e com doses padronizadas de AFBL poderiam ser conduzidos nesse sentido, visando avaliar melhor o efeito de diferentes doses da AFBL no tratamento da LM em relação à toxicidade e às taxas de cicatrização e de recidiva.

7. Conclusão

A forma cutaneomucosa ou o acometimento de mucosas isoladamente na LTA apresenta um alto grau de morbidade e, por isso, o diagnóstico e tratamento precoces se tornam fundamentais. A LM é a forma mais negligenciada da leishmaniose tegumentar. O controle da leishmaniose ainda é um problema sério, e as opções terapêuticas disponíveis são o principal desafio para a abordagem da doença. Nas últimas décadas, houve um grande avanço no conhecimento da biologia celular e da imunologia nesta infecção, mas a quimioterapia não foi aprimorada em igual amplitude, visto que dispomos de um arsenal terapêutico ultrapassado, especialmente para pacientes com comorbidades associadas, como cardiopatas e nefropatas.

Os antimoniais pentavalentes (Sb+5) ainda se mantêm como droga de primeira linha para o tratamento da LM, entretanto, estão longe de ser a droga ideal. Além do tratamento longo, são potencialmente tóxicos e podem desencadear efeitos adversos importantes. Por outro lado, a pentamidina parece ser uma droga mais segura que o antimonial, exceto em pacientes que cursem com problemas renais. Estudos comparativos maiores, portanto, que abranjam a toxicidade dessas drogas poderiam corroborar para que a pentamidina se tornasse a droga de primeira escolha no tratamento da LM, já que apresenta eficácia e taxa de recidiva semelhantes ao antimonial pentavalente, além de custo acessível.

A anfotericina B desoxicolato, por outro lado, mostrou-se uma droga muito tóxica e, portanto, de baixa eficácia, principalmente em função da alta taxa de interrupções de tratamento devido a sua nefrotoxicidade. Esta droga poderia tornar-se opção terapêutica apenas no caso de haver contraindicações aos esquemas de primeira linha e quando as formulações lipídicas não estiverem disponíveis.

São poucos trabalhos que relatam a experiência do uso do itraconazol no tratamento da LM. Neste estudo, foi a droga que apresentou a menor toxicidade entre os tratamentos propostos, mas continua sendo uma droga de terceira linha no tratamento da LM, pois, apesar do baixo custo e de ser administrada por via oral, demonstra eficácia variável na literatura. Neste estudo, por conta de uma alta taxa de recorrência, apresentou eficácia muito baixa, com diferença significativa em relação ao restante do arsenal terapêutico

analisado. Sendo assim, o itraconazol pode ser considerado como uma opção de tratamento para os casos refratários ou que apresentem contraindicação aos demais esquemas terapêuticos, ou, ainda, para localidades com poucos recursos, onde as outras opções de tratamento não estejam disponíveis.

As formulações lipídicas da anfotericina B, pela sua menor toxicidade, podem, em várias ocasiões, nos auxiliar no tratamento dos pacientes com LM, embora o ideal fosse possuímos uma droga de baixa toxicidade, de uso oral e de custo acessível. Os estudos existentes não mostram diferença de sucesso terapêutico entre as formulações lipídicas, entretanto, este é o primeiro trabalho com o uso da ABCL no tratamento da LM. Foram evidenciados importantes efeitos adversos relacionados à infusão, que prejudicaram a conclusão do tratamento, sugerindo que o uso rotineiro de pré-medicações poderia levar a um desfecho mais favorável com esta droga. A AFBL pode ser uma alternativa tão ou mais eficaz do que as outras drogas, apesar da falta de definição sobre qual seria sua dose ideal. Com o uso da AFBL, obtivemos elevada taxa de sucesso terapêutico e, ainda que curse com certa toxicidade renal e alta taxa de interrupção por efeitos adversos, esta pode ser provisória e pouco compromete a eficácia final da droga. De acordo com nosso estudo e com outras experiências na literatura até o momento, o intervalo de dose compreendido entre 30 e 35 mg/kg é o que parece alcançar eficácia próxima a 100%. Sugerimos, portanto, com base na amostra populacional deste estudo, uma dose cumulativa de 30 mg/kg para o tratamento da LM.

Este trabalho englobou, além de uma grande diversidade de informações acerca dos dados clínicos e epidemiológicos dos doentes, dados referentes aos desfechos de tratamento, como eficácia, tolerabilidade e recidiva. Estes dados são escassos na literatura dentro do contexto da LM, especialmente no que se refere ao uso da pentamidina, do itraconazol e das formulações lipídicas da anfotericina B. Tais formulações são cada vez mais estudadas e, esperamos, em um futuro próximo, que as drogas mais eficazes e mais seguras possam se tornar as drogas de primeira escolha no tratamento da LM. A pentamidina e a AFBL demonstraram ser, neste estudo, as melhores opções terapêuticas no tratamento da LM, sendo que a AFBL se mostrou a droga mais eficaz em relação às demais. Este estudo é de extrema relevância

clínica, visto que pode ser considerado piloto ao comparar a AFBL com outras drogas, reunir a maior série de casos no tratamento da LM com a formulação lipossomal, além de ampliar a experiência com o uso da ABCL, da pentamidina e do itraconazol no tratamento da LM.

8. Anexos

Anexo A - Aprovação do Comitê de Ética

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0576/11

Título: USO DA ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL PARA O TRATAMENTO DE PACIENTES COM LESHMANIOSE MUCOSA

Pesquisador Responsável: Valdir Sabbaga Amato

Pesquisador Executante: Raphael Abegão de Camargo

Co-autores: Antonio Carlos Nicodemo, Felipe Francisco Tuon, Carolina Rocio Oliveira Santos, Regina Maia de Souza

Finalidade Acadêmica: Monografia de Término de Residência Médica

Departamento: MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 28/09/2011 o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) a elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

erato.

CAPPesq, 28 de Setembro de 2011

[Assinatura]

[Assinatura]
PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP
Fone 55 11 3069-6442 ramais 16, 17, 18 e 20 - e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

Anexo B - Adendo ao Projeto com Componente Prospectivo

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0576/11

Título: Uso da anfotericina B lipossomal para o tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa

Pesquisador Responsável: Valdir Sabbaga Amato

Pesquisador Executante: Caroline Rocio Oliveira Santos

Finalidade Acadêmica: Doutorado

Departamento: MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU ad-referendum** em 15/08/2014, o(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

- Carta datada de 15.07.14 - Solicitação de adendo ao projeto para realização de estudo com componente retrospectivo e prospectivo; Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo prospectivo; inclusão da Dra. Carolina Rocio Oliveira Santos; finalidade acadêmica doutorado.

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delineado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)** apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

CAPPesq, 18 de Agosto de 2014

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador

Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovidio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo C - Emenda ao Projeto com Mudança de Título

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0576/11

Título: "Uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa. Análise de uma série de casos"

Pesquisador Responsável: Valdir Sabbaga Amato

Pesquisador Executante: Carolina Rocio Oliveira Santos

Disciplina: Moléstias Infecciosas e Parasitárias

Departamento: MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 16/12/2015, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

• Carta datada 15/10/2015 - Emenda ao protocolo de estudo solicitação de mudança de título para "Uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa. Análise de uma série de casos", relatório de andamento do estudo.

CAPPesq, 16 de Dezembro de 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador

Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo D - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

128

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: ☒ M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: ☒ M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Uso da Anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa.
Análise de uma série de casos

PESQUISADOR : Carolina Rocio Oliveira Santos

CARGO/FUNÇÃO: Médica Infectologista INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 141.300 SP

UNIDADE DO HCFMUSP: Moléstias Infecciosas

PESQUISADOR : Prof. Dr. Valdir Sabbaga Amato

CARGO/FUNÇÃO: Médico Infectologista INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 69843 SP

UNIDADE DO HCFMUSP: Moléstias Infecciosas

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 2 Anos**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Convidamos o Sr (a) para participar de forma voluntária desta pesquisa, que irá estudar os efeitos dos medicamentos usados no tratamento da leishmaniose mucosa. Observaremos a resposta ao tratamento com a dose total que foi utilizada ao término da internação.

A droga a ser utilizada no seu tratamento poderá ser o antimonial pentavalente, a pentamidina, a anfotericina B desoxicolato ou anfotericina B lipossomal, e será definida conforme a indicação médica, avaliando a sua condição clínica e as orientações do Ministério da Saúde.

Durante o tratamento, poderão ser coletadas amostras de sangue, por punção, a critério do médico responsável pela internação, para melhor controle dos possíveis efeitos adversos ao longo do tratamento. Neste caso, poderão ou não ocorrer hematomas decorrentes do procedimento.

Você terá o benefício de receber o tratamento para leishmaniose mucosa, independentemente de aceitar participar ou não da pesquisa. Entretanto, ao colaborar, você não terá benefício direto com a pesquisa, mas estará contribuindo para futuros pacientes que necessitem deste tratamento, já que nós poderemos avaliar qual é a melhor opção de droga a ser utilizada no tratamento da leishmaniose mucosa.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são: Prof Dr Valdir Sabbaga Amato e Dra Carolina Rocio Oliveira Santos, que podem ser encontradas no quarto andar do Instituto Central, no telefone 11-2661-3350/ Fax: 2661-6530 ou no telefone 11-94121-2426.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a você a liberdade de suspender o seu consentimento a qualquer momento deixando de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com a de outros pacientes, nunca sendo divulgado a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, ou de resultados

que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames ou consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

Os dados e materiais coletados serão utilizados nesta pesquisa, e o material colhido não será estocado.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Uso da Anfotericina B lipossomal no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa. Análise de uma série de casos". Eu discuti com o Dr. sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

Anexo E - Instrumento aplicado para revisão dos prontuários

DADOS GERAIS		
Nome:	Procedência:	Idade:
Data de nascimento:	RGHC:	Sexo:
Raça:	Peso:	
DADOS EPIDEMIOLÓGICOS		
Local mais provável de aquisição da doença:		
Lesão cutânea prévia (data de aparecimento e local):		
Biópsia da lesão cutânea pregressa (S/N):		
HISTÓRIA PREGRESSA		
Doenças prévias:		
Ecocardiograma prévio:		
Sintomas ORL:		
Tratamento anterior (droga- E.A/ falha/ Recidiva):		
EXAMES		
RINOSCOPIA:		
NASOFIBROSCOPIA:		
BIÓPSIA (S/N):	Data:	Número:
MICROSCOPIA:		
CONCLUSIVO (S/N):	IMUNO-HISTOQUIMICA HC:	IH (LIM):
SOROLOGIA ELISA:	SOROLOGIA IF:	MONTEMEGRO:
LEISHMANIOSE MUCOSA CONFIRMADA (S/N):		Padrão:
Se NÃO, citar critérios considerados:		
TOMOGRAFIA:		
NORMAL (S/N):		
Ur / Cr / Na / K / Mg/ GLIC basais:		
Ur / Cr / Na / K / Mg/ GLIC durante o tratamento:		
Ur / Cr / Na / K / Mg GLIC final do tratamento:		
TRATAMENTO		
Tratamento prévio (S/N):		
Se SIM, citar drogas, local, data e tempo:		
Contraindicações a outras drogas:		
Tratamento atual com:		
Local, data, tempo e dose acumulada:		
Efeitos adversos relacionados a infusão da droga:		
(Flebite, sudorese, tremor, calafrios, febre, cefaleia, náuseas ou vômitos, alterações do TGI, dor lombar, dor torácica, mialgia, artralgia, palpitação, erupções cutâneas).		
Efeitos adversos sistêmicos:		
(insuficiência renal, insuficiência hepática, mielotoxicidade, distúrbio hidroeletrólítico, alteração glicêmica, alteração eletrocardiográfica, alterações de transaminases e de enzimas hepáticas):		
O tratamento teve que ser suspenso por algum período (S/N):		
Se SIM, citar porque e por quanto tempo:		
Tempo de Internação:		
SEGUIMENTO		
Tempo de seguimento:		
Cura/ Recidiva:		

9. Referências Bibliográficas

Abbas K, Musatafa MA, Abass S, Kheir MM, Mukhtar M, Elamin EM, Elhassan AM. Mucosal leishmaniasis in a Sudanese patient. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2009;80:935-8.

Adams ER, Gomez MA, Scheske L, Rios R, Marquez R, Cossio A, Albertini A, Schallig H, Saravia NG. Sensitive diagnosis of cutaneous leishmaniasis by lesion swab sampling coupled to qPCR. *Parasitology*. 2014;141:1891-97.

Adler-moore JP, Proffitt, RT. AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002;49(Suppl.1):21-30.

Adler-moore JP, Proffitt RT. Development, characterization, efficacy and mode of action of AmBisome, a unilamellar liposomal formulation of amphotericin B. *J Liposome Res*. 1993;3:429-50.

Adler-moore JP, Proffitt RT. AmBisome: long circulating formulation of Amphotericin B. In: Woodle MC, Storm G. *Long Circulating Liposomes: Old Drugs, New Therapeutics*. New York, NY: Springer-Verlag. 1998;185-206.

Akuffo H, Dietz M, Teklemariam S, Tadesse T, Amare G, Berhan TY. The use of itraconazole in the treatment of leishmaniasis caused by *Leishmania aethiopica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1990;84:532-34.

Albanese G, Giorgetti P, Santagostino L, Crippa D, Sala G. Cutaneous leishmaniasis. Treatment with itraconazole. *ArchDermatol*. 1989;125(11):1540-42.

Allison MJ, Gerszten E, Fouant M. Paleopathology: today's laboratory investigates yesterday's diseases. *Diagn Med*. 1982;28-48.

Altamirano Enciso AJ, Marzochi MC. Lytic lesions by leishmaniasis in Makat-Tampu, ancient Peru. In: *Paleopathology Association Meeting in South America (PAMinSA)*. Scientific Program and Abstracts. 2005;22-3.

Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, den Boer M, Canavate C, Dedet J-P, Gradoni L, Ter Horst R, Lopez-Velez R, Moreno J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21:334–359.

Alving, CR. Delivery of liposome-encapsulated drugs to macrophages. *Pharmacotherapy*. 1983;22:407-24.

Amato V, Amato J, Nicodemo A, Uip D, Amato-Neto V, Duarte M. Treatment of mucocutaneous leishmaniasis with pentamidine isothionate. *Ann Dermatol Venereol*. 1998b;125(8):492-95.

Amato VS, Andrade HF, Amato Neto V, Duarte MI. Short report: persistence of tumor necrosis factor-alpha in situ after lesion healing in mucosal leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2003b;68(5):527-8.

Amato VS, Boulos MI, Amato Neto V, Filomeno LT. The use of a silicone T tube for the treatment of a case of American mucocutaneous leishmaniasis with tracheomalacia. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1995;28(2):129-30.

Amato VS, de Andrade Jr HF, Duarte MIS. Mucosal leishmaniasis: in situ characterization of the host inflammatory response, before and after treatment. *Acta tropica*. 2003a;85:39-49.

Amato VS, Duarte MIS, Nicodemo AC, Carvalho LV, Pagliari C, da Matta VLR, de Oliveira LS, de Castro SM, Uip DE, Amato JGP, Amato Neto V. An evaluation of clinical, serologic, anatomopathologic and immunohistochemical findings for fifteen patients with mucosal leishmaniasis before and after treatment. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1998a;40:23-30.

Amato VS, Nicodemo AC, Amato JG, Boulos M, Amato Neto V. Mucocutaneous leishmaniasis associated with HIV infection treated successfully with liposomal amphotericin B (AmBisome). *J Antimicrob Chemother*. 2000a;46(2):341-2.

Amato VS, Padilha ARS, Nicodemo AC, Duarte MIS, Valentini M, Uip DE, Boulos M, Amato Neto V. Use of itraconazole in the treatment of mucocutaneous leishmaniasis: a pilot study. *Int J Infect Dis*. 2000b;4(3):153-7.

Amato VS, Rabello A, Rotondo-Silva A, Kono A, Maldonado TPH, Alves IC, Floeter-Winter LM, Amato Neto V, Shikanai-Yasuda MA. Successful treatment of cutaneous leishmaniasis with lipid formulations of amphotericin B in two immunocompromised. *Acta Trop*. 2004;92(2):127-32.

Amato VS, Tuon FF, Bacha HA, Amato Neto V, Nicodemo AC. Mucosal leishmaniasis: current scenario and prospects for treatment. *Acta Trop*. 2008;105(1):1-9.

Amato VS, Tuon FF, Camargo RA, Souza RM, Santos CR, Nicodemo AC. Can we use a lower dose of liposomal amphotericin B for the treatment of mucosal American leishmaniasis? *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011;85(5):818-9.

Amato VS, Tuon FF, Campos A, Bacha HA, Nicodemo AC, Amato Neto V, Shikanai-Yasuda MA. Treatment of mucosal leishmaniasis with a lipid formulation of Amphotericin B. *Clin Infect Dis*. 2007a;44(2):311-12.

Amato VS, Tuon FF, Imamura R, Abegão de Camargo R, Duarte MI, Neto VA. Mucosal leishmaniasis: description of case management approaches and analysis of risk factors for treatment failure in a cohort of 140 patients in Brazil. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(9):1026-34.

Amato VS, Tuon FF, Siqueira AM, Nicodemo AC, Amato Neto V. Treatment of mucosal leishmaniasis in Latin America: systematic review. *Am J Trop Med Hyg*. 2007b;77:266-74.

Amato VS. Utilização do isotionato de pentamidina para o tratamento da leishmaniose mucosa [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1997.

Arevalo J, Ramirez L, Adaui V, Zimic M, Tulliano G, Miranda-Verástegui C, Lazo M, Loayza-Muro R, De Doncker S, Maurer A, Chappuis F, Dujardin JC, Llanos-Cuentas A. Influence of *Leishmania* (Viannia) species on the response to antimonial treatment in patients with American tegumentary leishmaniasis. *J Infect Dis*. 2007;195(12):1846-51.

Arning M, Kliche KO, Heer-Sonderhoff AH, Wehmeier A. Infusion-related toxicity of three different amphotericin B formulations and its relation to cytokine plasma levels. *Mycoses* 1995;38:459–65.

Aronson NE, Wortmann GW, Johnson SC, Jackson JE, Gasser Jr RA, Magill AJ, Endy TP, Coyne PE, Grogl M, Benson PM, Beard JS, Tally JD, Gambel JM, Kreutzer RD, Oster CN. Safety and efficacy of intravenous sodium stibogluconate in the treatment of leishmaniasis: recent U.S. military experience. *Clin Infect Dis*. 1998;27:1457-64.

Baroni A, Aiello FS, Vozza A, Vozza G, Faccenda F, Brasiello M, Ruocco E. Cutaneous leishmaniasis treated with itraconazole. *Dermatol Ther*. 2009;(Suppl 1): S27-9.

Barral A, Barral-Netto M, Almeida R, de Jesus AR, Grimaldi Júnior G, Netto EM, Bacellar O, Carvalho EM. Lymphadenopathy associated with *Leishmania braziliensis* cutaneous infection. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;47:587-92.

Barral A, Barral-Netto M, Young EC, Brownell CE, Twardzik DR, Reed SG. Transforming growth factor beta as a virulence mechanism for *Leishmania braziliensis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:3442-6.

Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Júnior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, Almeida R, Badaro R, Barral-Netto M, Carvalho EM et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: Evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1991;44:536-46.

Bates DW, Su L, Yu DT, Chertow GM, Seger DL, Gomes DR, et al. Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2001;32:686-93.

Bellmann R, Egger P, Wiedermann CJ. Differences in pharmacokinetics of amphotericin B lipid formulations despite clinical equivalence. *Clin Infect Dis*. 2003;36:1500-1.

Berman JD. Chemotherapy for Leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy and future strategies. *Clin Infect Dis*. 1988b;10:560-86.

Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis*. 1997;24:684-703.

Berman JD. Primary agent for leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 1988a;38:652.

Berman JD, Waddell D, Hanson BD. Biochemical mechanisms of the antileishmanial activity of sodium stibogluconate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985;27:916-920.

Bermudez H, Rojas E, Garcia L, Desjeux P, Dujardin JC, Boelaert M, Chappuis F. Generic sodium stibogluconate is as safe and effective as branded meglumine antimonate, for the treatment of tegumentary leishmaniasis in Isiboro Secure Park, Bolivia. *Ann Trop Med Parasitol*. 2006;100:591–600.

Bern C, Adler-Moore J, Berenguer J, Boelaert M, den Boer M, Davidson RN, Figueras C, Gradoni L, Kafetzis DA, Ritmeijer K, Rosenthal E, Royce C, Russo R, Sundar S, Alvar J. Liposomal amphotericin B for the treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 2006;43:917-24.

Bhattacharyya N. Clinical symptomatology and paranasal sinus involvement with nasal septal perforation. *Laryngoscope*. 2007;117:691-4.

Boaventura VS, Cafe V, Costa J, Oliveira F, Bafica A, Rosato A, de Freitas LAR, Brodskyn C, Barral-Netto M, Barral A. Concomitant early mucosal and cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75: 267-69.

Boswell GW, Bekersky I, Buell D, Hiles R, Walsh TJ. Toxicological profile and pharmacokinetics of a unilamellar liposomal vesicle formulation of amphotericin B in rats. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:263-8.

Botelho ACC, Mtafuri WL, Genaro O, Mayrink W. Histopathology of human american cutaneous Leishmaniasis before and after treatment. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31:11-8.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ª ed. atual. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

Cagnoni PJ. Liposomal amphotericin B versus conventional amphotericin B in the empirical treatment of persistently febrile neutropenic patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2002;49 Suppl 1:81-6.

Calvopina M, Guevara AG, Armijos RX, Hashiguchi Y, Davidson RN, Cooper PJ. Itraconazole in the treatment of New World mucocutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2004;43(9):659-63.

Camargo EP. Doenças Tropicais. Estudos Avançados - USP. 2008;22(64):95-110.

Camargo RA, Tuon FF, Sumi DV, Gebrim EM, Imamura R, Nicodemo AC, Cerri GG, Amato VS. Mucosal leishmaniasis and abnormalities on computed tomographic scans of paranasal sinuses. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;83:515-8.

Carvalho EM, Johnson WD, Barreto E, Marsden PD, Costa JL, Reed S, Rocha H. Cell mediated immunity in American cutaneous and mucosal leishmaniasis. *J. Immunol.* 1985;135:4144-48.

Castro RM. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana pela anfotericina B – A propósito de 70 casos. *An Bras Dermatol.* 1972;47:230-2.

Chiari, C.A.; Mayrink, W.; Magalhães, P.A. Indirect immunofluorescent reaction in the control and treatment of American cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1973;(5):298-303.

Chiari, C.A.; Mayrink, W.; Magalhães. Evaluation of chemotherapy of american leishmaniasis by the indirect fluorescent antibody test. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980;29:747-52.

Cobo F, Rodriguez-Granger J, Gomez-Camarasa C, Sampedro A, Aliaga-Martinez L, Navarro JM, Fernandez JG. Localized mucosal leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* mimicking cancer in the rhinolaryngeal region. *Int J Infect Dis.* 2016;50:54-56.

Consigli J, Danielo C, Gallerano V, Papa M, Guidi A. Cutaneous leishmaniasis: successful treatment with itraconazole. *Int J Dermatol.* 2006 Jan;45(1):46-9.

Corredor A, Kreutzer RD, Tesh RB, Boshell J, Palau MT, Caceres E, Duque S, Pelaez D, Rodriguez G, Nichols S. Distribution and etiology of leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;42:206-14.

Cuba Cuba CA, Miles MA, Vexenat A et al. A focus of mucocutaneous leishmaniasis in Três Bracos, Bahia, Brazil: characterization and identification of *Leishmania* stocks isolated from man and dogs. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985;79:500–507.

Cuba CC, Llanos-Cuentas EA, Barreto AC, Magalhães AV, Lago EL, Reed SG, Marsden PD. Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Bracos, Bahia-Brazil. An area of *Leishmania braziliensis* transmission. I. Laboratory diagnosis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1984;17:161-7.

Cuba-Cuba CA, Evans D, Rosa AC, Marsden PD. Clonal variation within a mucosal isolate derived from a patient with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* infection. *Rev Inst Med Trop.* 1991;33:343-50.

Cuba Cuba CA, Netto EM, Marsden PD, Rosa Ade C, Llanos Cuentas EA, Costa JL. Cultivation of *Leishmania braziliensis* from skin ulcers in man under field conditions. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1986;80:456-7.

Cunha MA, Leão AC, de Cassia Soler R, Lindoso JA. Efficacy and Safety of Liposomal Amphotericin B for the Treatment of Mucosal Leishmaniasis from the New World: A Retrospective Study. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;93(6):1214-8.

CVE– Centro de Vigilância Epidemiológica. CdV.2009; disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/hta_gve.htm.

Davidson RN. Practical guide for the treatment of leishmaniasis. *Drugs.* 1998; 56:1009-18.

de Camargo RA, Nicodemo AC, Sumi DV, Gebrim EM, Tuon FF, de Camargo LM, Imamura R, Amato VS. Facial structure alterations and abnormalities of the paranasal sinuses on multidetector computed tomography scans of patients with treated mucosal leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(7):e3001.

de Macedo-Silva ST, Urbina JA, de Souza W, Rodrigues JCF. In Vitro Activity of the Antifungal Azoles Itraconazole and Posaconazole against *Leishmania amazonensis*. *PLoS One.* 2013;8(12):e83247.

de Moraes-Teixeira E, Aguiar MG, Lima BSSL, Ferreira LAM, Rabello A. Combined suboptimal schedules of topical paromomycin, meglumine antimoniate and miltefosine to treat experimental infection caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(12):3283-90.

de Souza e Souza I, Naiff RD, Guimaraes TC, Naiff MF, Cupolillo E, Rodrigues WA, et al. American cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) guyanensis* as an initial clinical presentation of human immunodeficiency virus infection. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV.* 1998;10:214-7.

de Souza WJ, Coutinho SG, Marzochi MC, de Toledo LM, Gottlieb MV. Use of the indirect immunofluorescence test in the therapeutic follow-up of cutaneous leishmaniasis Americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1982;77(3):247-53.

Di Lella F, Vincenti V, Zennaro D, Afeltra A, Baldi A, Giordano D, Pasanisi E, Bacciu A, Bacciu S, Di Lella G. Mucocutaneous leishmaniasis: report of a case with massive involvement of nasal, pharyngeal and laryngeal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35(9):870-2.

Di Giorgio C, Faraut-Gambarelli F, Imbert A, Minodier P, Gasquet M, Dumon H. Flow cytometric assessment of amphotericin B susceptibility in *Leishmania infantum* isolates from patients with visceral leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 1999;44:71-6.

Dogra J, Saxena VN, Jaipur CGHS. Itraconazole and leishmaniasis: a randomized double blind trial in cutaneous disease. *Int J Parasitol.* 1996;26:1413-15.

Dorval ME, Oshiro ET, Cupollilo E, Castro AC, Alves TP. Occurrence of American tegumentary leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State associated to the infection for *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39:43-6.

Falcof E, Taranto NJ, Remondegui CE, Dedet JP, Canini LM, Ripoli CM, Dimier-David L, Gimenez L, Bernabo JG. Clinical healing of antimony-resistant cutaneous or mucocutaneous leishmaniasis following the combined administration of interferon-gamma and pentavalent antimonial compounds. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994;88(1):95-7.

Falqueto A, Cora JR, Barros GC, Grimaldi Filho G, Sessa PA, Carias VR, de Jesus AC, de Alencar JT. Participation of the dog in the cycle of transmission of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Viana, State of Espírito Santo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1986;81:155-63.

Fleming RV, Kantarjian HM, Husni R, Rolston K, Lim J, Raad I, Pierce S, Cortes J, Estey E. Comparison of amphotericin B lipid complex (ABLC) vs. AmBisome in the treatment of suspected or documented fungal infections in patients with leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2001;40:511-20.

Floeter-Winter LM, Shaw JJ. New horizons in the identification and taxonomy of the *Leishmania* and the diagnosis of the leishmaniasis: the expansion of molecular techniques. *Res Adv in Microbiology*. 2004;4:63-79.

Focaccia R, editor. *Tratado de Infectologia - Leishmaniose tegumentar americana*. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2005.

Franke ED, Wignall FS, Cruz ME, Rosalez E, Tovar AA, Lucas CM, Llanos Cuentas A, Berman JD. Efficacy and toxicity of sodium stibogluconate for mucosal leishmaniasis. *Annals of Internal Medicine*. 1990;113:934-940.

Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE, Fisk T, Robins R, von Sonnenburg F, Keystone JS, Pandey P, Cetron MS. Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *N Engl J Med*. 2006;354:119-30.

Furtado TA. Leishmaniose americana. In: Amato Neto V, Baldy JLS (Eds.). *Doenças Transmissíveis*. 3ª ed. São Paulo: Sarvier; 1989. p. 553-7.

Furtado TA. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana pela anfotericina B. *O Hospital*. 1961;59:969-1001.

Gallis HA, Drew RH, Pickard WW. Amphotericin B: 30 years of clinical experience. *Rev Infect Dis*. 1990;12(2):308-29.

Galvão EL, Rabello A, Cota GF. Efficacy of azole therapy for tegumentary leishmaniasis: A systematic review and metaanalysis. *Plos One*. 2017; 12(10):e0186117.

Gangneux JP, Dullin M, Sulahian A, Garin YJ, Derouin F. Experimental evaluation of second-line oral treatments of visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:172-74.

Goldsmith DR, Perry CM. Amphotericin B lipid complex: in visceral leishmaniasis. *Drugs*. 2004;64(17):1905-11.

Gontijo Bernardo, Carvalho Maria de Lourdes Ribeiro de. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2003;36(1):71-80.

Goto H, Lindoso JAL, 2010. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;(4):419-33.

Grimaldi G Jr, Tesh RB, McMahon-Pratt D. 1989. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. *Am J Trop Med Hyg*. 1989;41:687-725.

Grogl, M.; Thomason, T.N.; Franke, E.D. Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 1992;47:117-26.

Guerra JA, Prestes SR, Silveira H, Coelho LI, Gama P, Moura A, Amato V, Barbosa MD, Ferreira LC. Mucosal leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* and *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* in the Brazilian Amazon. *Plos Negl Trop Dis* 2011;5:e980.

Guery R, Henry B, Martin-Blondel G, Rouzaud C, Cordoliani F, Harms G, Gangneux JP, Foulet F, Bourrat E, Baccard M, Morizot G, Consigny PH, Berry A, Blum J, Lortholary O, Buffet P; French Cutaneous Leishmaniasis Study group & the LeishMan network. Liposomal amphotericin B in travelers with cutaneous and muco-cutaneous leishmaniasis: Not a panacea. *Plos Negl Trop Dis*. 2017;11(11):e0006094.

Gutierrez Y, Salinas GH, Palma G, Valderrama LB, Santrich CV, Saravia NG. Correlation between histopathology, immune response, clinical presentation, and evolution in *Leishmania braziliensis* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 1991; 45:281-89.

Harms G, Schonian G, Feldmeier H. Leishmaniasis in Germany. *Emerging infectious diseases*. 2003;9:872-5

Hayden R, Persing DH. Diagnostic molecular microbiology. *Curr Clin Top Infect Dis*. 2001;21:323-48.

Hentzer B, Kobayasi T. The ultrastructural changes of *Leishmania tropica* after treatment with pentamidine. *Ann Trop Parasitol*. 1977;71:157-66.

Herwaldt BL, Berman JD. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;46:296-306.

Heykants J, Van Peer A, Van de Velde V, Van Rooy P, Meuldermans W, Lavrijsen K, Woestenborghs R, Van Cutsem J, Cauwenbergh. The clinical pharmacokinetics of itraconazole: an overview. *Mycoses*. 1989;32(Suppl 1): 67-87.

Hiemenz JW, Walsh TJ. Lipid formulations of amphotericin B: recent address these pharmacoeconomic issues by comparing the progress and future directions. *Clin Infect Dis*. 1996; 22(Suppl 2):S133-44.

Hillery AM. Supramolecular lipidic drug delivery systems: From laboratory to clinic. A review of the recently introduced commercial liposomal and lipid-based formulations of amphotericin B. *Adv Drug Del Rev*. 1997;24:345-63.

Iborra, C., Caumes, E., Carriere, J., Cavelier-Balloy, B., Danis, M., Bricaire, F. Mucosal leishmaniasis in a heart transplant recipient. *Br. J. Dermatol*. 1998; 138:190–192.

Ishikawa EAY, Silveira FT, Magalhães ALP, Guerra Jr RB, Melo MN, Gomes R, Silveira TGV, Shaw JJ. Genetic variation in populations of *Leishmania* species in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96 (Suppl 1):S111-21.

Janknegt R, de Marie S, Bakker-Woudenberg IAJM, Crommelin DJA. Liposomal and lipid formulations of amphotericin B. *Clin Pharmacokinet*. 1992;23:279-91.

Janoff AS, Perkins WR, Saletan SL, Swenson CG. Amphotericin B lipid complex (ABLC): a molecular rationale for the attenuation of amphotericin B related toxicities, *J Liposome Res*, 1993;3:451-71.

Joly V, Bolard J, Saint-Julien L, Carbon C, Yeni P. Influence of phospholipid/amphotericin B ratio and phospholipid type on in vitro renal cell toxicities and fungicidal activities of lipid-associated amphotericin B formulations. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:262-6.

Jones TC, Johnson Jr WD, Barretto AC, Lago E, Badaro R, Cerf B, Reed SG, Netto EM, Tada MS, Franca TF. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis braziliensis*. *J. Infect. Dis*. 1987;156:73-83.

Kan VL, Bennett JE, Amantea MA, et al. Comparative safety, tolerance, and pharmacokinetics of amphotericin B lipid complex and amphotericin B deoxycholate in healthy male volunteers, *J Infect Dis*, 1991;164:418-21.

Kar K. Serodiagnosis of leishmaniasis. *Crit Rev Microbiol*. 1995;21:123-52.

Kevric I, Cappel MA, Keeling JH New World and Old World *Leishmania* Infections: A Practical Review. *Dermatol Clin*. 2015;33(3):579-93.

Killick-Kendrick R. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin Dermatol*. 1999;17: 279-89.

Lainson, R.; Shaw, J.J.; Silveira, F.T.; de Souza, A.A.A.; Braga, R.R.; Ishikawa, E.A.Y. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in amazonia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1984;89, p. 435-43.

Larosa E, Cauwenbergh G, Cilli P, Woestenborghs R, Heykants J. Itraconazole pharmacokinetics in female genital tract: plasma and tissue levels in patients undergoing hysterectomy after a single dose of 200 mg itraconazole. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1986;23(1-2):85-89.

Lawn, S.D., Armstrong, M., Chilton, D., Whitty, C.J. Electrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travellers. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2006;100:264–269.

Alvarez-Lerma F, Soriano MC, Rodriguez M, Catalan M, Llorente AM, Vidart N, et al. Impact of liposomal amphotericin B on renal function in critically ill patients with renal function impairment. Revista espanola de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia. 2012;25:206-15.

Lessa HA, Lessa MM, Guimaraes LH, Lima CM, Arruda S, Machado PR, et al. A proposed new clinical staging system for patients with mucosal leishmaniasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2012;106(6):376-81.

Levin ASS, Dias MBGS, Oliveira MS, Lobo RD, Garcia CP e col. Guia de utilização de anti-infecciosos e recomendações para a prevenção de infecções hospitalares. 5ª ed. São Paulo: Hospital das Clínicas; 2011. p.43-4.

Limongi, JP. Capítulo 61. In: Corbett, CE. Farmacodinâmica. São Paulo: Livraria Editora Artes Médicas; 1973.

Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, et al. Clinical and parasite species risk factors for pentavalent antimonial treatment failure in cutaneous leishmaniasis in Peru. Clin Infect Dis. 2008;46:223-31.

Machado-Coelho GL, Caiaffa WT, Genaro O, Magalhaes PA, Mayrink W. Risk factors for mucosal manifestation of American cutaneous leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2005;99:55–61.

Magalhães, A. V. Histopatologia de leishmaniose tegumentar de Três Braços, BA. Doctoral thesis, 1984, Belo Horizonte, Minas Gerais.

- Mandell GLB, Bennett JE, Dolin, R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000. p.2831-44.
- Marfurt J, Niederwieser I, Makia D, Beck HP, Felger I. Diagnostic genotyping of old and new world leishmania species by PCR-RFLP. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003;46:115-24.
- Markle WH, Makhoul K. Cutaneous leishmaniasis: recognition and treatment. *Am. Fam. Physician.* 2004;69:1455-60.
- Marsden PD. Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80(6):859-76.
- Marsden, PD. Mucosal Leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) brasiliensis* L(V)b in Três Braços, Bahia-Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1994;27:93-101.
- Marsden PD. Pentavalent antimonials: old drugs for new diseases. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1985;18:187-98.
- Marsteller SJ, Torres-Rouff C, Knudson KJ. Pre-Columbian Andean sickness ideology and the social experience of leishmaniasis: a contextualized analysis of bioarchaeological and paleopathological data from San Pedro de Atacama, Chile. *Int J Paleopathol.* 2011;1:24-34.
- Martino, R. Efficacy, safety and cost-effectiveness of Amphotericin B lipid complex (ABLC): a review of the literature. *Curr Med Res Opin.* 2004;20:485-504.
- Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil. *J Bras Med.* 1992;63:82-104.
- Marzochi MC, Marzochi KB. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad Saúde Pública.* 1994; 10 (Supl 2):359-75.
- Miekeley N, Mortari SR, Schubach AO. Monitoring of total antimony and its species by ICP-MS and on-line ion chromatography in biological samples from patients treated for leishmaniasis. *Anal Bioanal Chem.* 2002; 372(3):495-502.
- Moreira, J. Distribuição geográfica. *Gazeta Médica, Bahia,* 1895.
- Motta AC, Arruda D, Souza CS, Foss NT. Disseminated mucocutaneous leishmaniasis resulting from chronic use of corticosteroid. *Int. J. Dermatol.* 2003;42:703–706.
- Murray HW. Kala-azar progress against a neglected disease. *N Engl J Med.* 2002;347:1793-4.
- Murray HW. Leishmaniasis in the United States: treatment in 2012. *The American journal of tropical medicine and hygiene.* 2012;86:434-40.

Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet*. 2005;366(9496):1561-77.

Netto EM, Marsden PD, Llanos-Cuentas EA, Costa JM, Cuba CC, Barreto AC, Badaró R, Johnson WD, Jones TC. Long-term follow-up of patients with *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection and treated with glucantime. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1990;84:367-70.

Nonata R, Sampaio R, Marsden PD. Mucosal leishmaniasis unresponsive to glucantime therapy successfully treated with AmBisome. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1997;91(1):77.

Nunes FD, Araújo VC, Sotto MN, Araújo NS. Mucocutaneous leishmaniasis: a study of oral lesions by peroxidase-antiperoxidase technique. *Rev ABO Nac*. 1993;1(2):105-8.

Oliveira JG, Novais FO, de Oliveira CI, et al. Polymerase chain reaction (PCR) is highly sensitive for diagnosis of mucosal leishmaniasis. *Acta Trop*. 2005;94:55–59.

Oliveira MRF, Macêdo VO, Carvalho EM, Barrai A, Marotti JG, Bittencourt A, Abreu MVA, Orge MLGO, Lessa HA, Marsden PD. Estudo evolutivo da leishmaniose mucosa (7 a 17 anos de seguimento) causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em Três Braços, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1995;28(4):325-32.

Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, Fernandes O, Goncalves-Costa SC, Souza CF, Grimaldi Jr, G. Mucosal leishmaniasis (“espundia”) responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop*. 2000;42:321–325.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C. A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am.J. Trop. Med. Hyg*. 1997;57:651–655.

Ovalle-Bracho C, Díaz-Toro YR, Muvdi-Arenas S. Polymerase chain reaction-miniexon: a promising diagnostic method for mucocutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2016 May;55(5):531-9.

Palheta Neto FX, Rodrigues AC, Silva LL, Palheta ACP, Rodrigues LG, Silva FA. Otorhinolaryngologic Manifestations Relating American Tegumentary Leishmaniasis: Literature Review. *Arq Int Otorrinolaringol*. 2008;12:531-37.

Passos VM1, Barreto SM, Romanha AJ, Krettli AU, Volpini AC, Gontijo CM, Falcão AL, Lima-Costa MF. [Cutaneous leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte: clinical, laboratorial, therapeutic and prognosis features (1989-1995)]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34(1):5-12.

Pirmez C, Câmara P, Oliveira-Neto MP, Andrade TCB, Oliveira MP, Silva-Gonçalves AJ, Fernandes O. Hematogenic dissemination, parasite persistence and immune evasion in human leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1998; 31(Supl III):77-8.

Pirmez C, Fernandes O, Oliveira-Neto M. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) antes e após o tratamento na leishmaniose tegumentar. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000;33:58-60.

Pirmez C, Yamamura M, Uyemura K, Paes-Oliveira M, Conceição-Silva F, Modlin, RL. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J Clin Invest.* 1993;91:1390-95.

Ramos-E-Silva M, De Moura Castro Jacques C. Leishmaniasis and other dermatozoonoses in Brazil. *Clin Dermatol.* 2002;20(2):122-34.

Registro de Medicamentos: Como a Anvisa vê o uso off label de medicamentos. Gerência de Medicamentos Novos, Pesquisa e Ensaios Clínicos; Brasília 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/registro/registro_offlabel.htm.

Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7:581-96.

Revez L, Maia-Elkhoury AN, Nicholls RS, Romero GA, Yadon ZE. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: a systematic review update. *PLoS One.* 2013;8(4):e61843.

Ridley DS, Magalhães AV, Marsden PD. Histological analysis and the pathogenesis of mucocutaneous leishmaniasis. *J Pathol.* 1989;159:293-9.

Roberts WL, McMurray WJ, Rainey PM. Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimonite (glucantime). *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:1076-82.

Rocio C, Amato VS, Camargo RA, Tuon FF, Nicodemo AC. Liposomal formulation of amphotericin B for the treatment of mucosal leishmaniasis in HIV-negative patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2014;108(3):176-8.

Roden MM, Nelson LD, Knudsen TA, Jarosinski PF, Starling JM, Shiflett SE, Calis K, DeChristoforo R, Donowitz GR, Buell D, Walsh TJ. Triad of acute infusion-related reactions associated with liposomal amphotericin B: analysis of clinical and epidemiological characteristics. *Clin Infect Dis.* 2003;36:1213–31220.

Rodrigues AM, Hueb M, Santos TA, Fontes CJ. Factors associated with treatment failure of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2006;39:139–145.

Romero GA, Lessa HA, Macêdo VO, Carvalho EM, Barral A, Magalhães AV, Orge MG, Abreu MV, Marsden PD. Open therapeutic study with aminosidine sulfate in mucosal leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1996;29(6):557-65.

Romero GA, Vinitius De Farias Guerra M, Gomes Paes M, de Oliveira Macedo V. Comparison of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: clinical findings and diagnostic approach. *Clin Infect Dis*. 2001;32(9):1304-12.

Rotureau B. Trypanosomatid (Protozoa, Kinetoplastida) parasites of sloths (Mammalia, Xenarthra). *Bull Soc Pathol Exot*. 2006;99(3):171-5.

Sáenz RE, Paz HM, de Rodriguez GC, de Vásquez AM, Mata RE, Johnson CM. Mucocutaneous leishmaniasis in Panama. Etiologic agent, epidemiologic and clinical aspects. *Revista Medica de Panama*. 1989;14(1):6-15.

Safdar A, Ma J, Saliba F et al. Drug-induced nephrotoxicity caused by amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B: a review and meta-analysis. *Medicine* 2010;89:236–44.

Saldarriaga OA, Castellanos-Gonzalez A, Porrozzi R, Baldeviano GC, Lescano AG, de Los Santos MB, Fernandez OL, Saravia NG, Costa E, Melby PC, Travi BL. An Innovative Field-Applicable Molecular Test to Diagnose Cutaneous *Leishmania Viannia* spp. *Infections*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(4):e0004638.

Sampaio RN, Marsden PD. Treatment of the mucosal form of leishmaniasis without response to glucantime, with liposomal amphotericin B. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30(2):125-8.

Sampaio R.N.R. Tratamento hospitalar da leishmaniose curcineo-mucosa. Master's thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil. 1984.

Sampaio SAP, Godoy JT, Paiva L, Dillon NL, Lacaz CDS. The treatment of american (mucocutaneous) leishmaniasis with amphotericin B. *Arch Dermatol*. 1960;82(4):627-35.

Santos JB, Lauand L, Souza GS, Macedo VO. Socioeconomic factors and attitudes towards household prevention of American cutaneous leishmaniasis in an endemic area in Southern Bahia, Brazil. *Cad Saude Publica* 2000; 16:701–708.

Schubach A, Marzochi MC, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV, Araújo M, Oliveira AL, Pacheco RS, Momen H, Conceição-Silva F, Coutinho S, Marzochi KB. Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (Viannia) braziliensis* persists and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;58:824-7.

Schwartz E, Hatz C, Blum J. New world cutaneous leishmaniasis in travellers. *Lancet Infect Dis* 2006;6:342-49.

Scope A, Trau H, Anders G, Barzilai A, Confino Y, Schwartz E. Experience with New World cutaneous leishmaniasis in travelers. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 49:672-8.

Scott P. Impaired macrophage leishmanicidal activity at cutaneous temperature. *Parasite Immunol.* 1985;7:277-88.

Sereno D, Lemesre JL. Axenically cultured amastigote forms as an in vitro model for investigation of antileishmanial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(5):972-6.

Silveira TG, Arraes SM, Bertolini DA, Teodoro U, Lonardoni MV, Roberto AC, Ramos M, Nerilo SA, Ishikawa E, Shaw J. The laboratory diagnosis and epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Parana State, southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999;32:413-23.

SINAN - Sistema de Notificação de Agravos de Notificação. Ministério da Saúde, 2009. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>>. Acesso em 13 mai 2009.

Singer C, Armstrong D, Jones TC, Spiro RH. Imported mucocutaneous leishmaniasis in New York City. Report of a patient treated with amphotericin B. *Am J Med.* 1975;59:444-7.

Snider H, Lezama-Davila C, Alexander J, Satoskar AR. Sex hormones and modulation of immunity against leishmaniasis. *Neuroimmunomodulation.* 2009; 16(2):106-13.

Solomon M, Baum S, Barzilai A, Scope A, Trau A, Schwartz E. Liposomal amphotericin B in comparison to sodium stibogluconate for *L. braziliensis* cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56:612-16.

Solomon M, Pavlotzky F, Barzilai A, Schwartz E. Liposomal amphotericin B in comparison to sodium stibogluconate for *Leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis in travelers. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(2):284-9.

Sotto, M.N. Leishmaniose Tegumentar Americana: imunopatologia diagnóstica e contribuição à patogenia. São Paulo, 1986. 74p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Soto J, Rea J, Valderrama M, Toledo J, Valda L, Ardiles J, Berman J. Efficacy of extended (six weeks) treatment with miltefosine for mucosal leishmaniasis in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:387-9.

Sundar S, Mehta H, Suresh AV, Singh SP, Rai M, Murray HW. Amphotericin B treatment for Indian visceral leishmaniasis: conventional versus lipid formulations. *Clin Infect Dis.* 2004;38(3):377-83.

Sundar S, Sinha PK, Rai M, Verma DK, Nawin K, Alam S, Chakravarty J, Vaillant M, Verma N, Pandey K, Kumari P, Lal CS, Arora R, Sharma B, Ellis S, Strub-Wourgaft N, Balasegaram M, Olliaro P, Das P, Modabber F. Comparison of short-course multidrug treatment with standard therapy for visceral leishmaniasis in India: an open-label, non-inferiority, randomized controlled trial. *Lancet*. 2011;377:477-86.

Talhari S, Arias JR, Cunha MGS, Naiff RD, Naiff MF, Freitas RA, Barret T. Leishmaniose no Estado do Amazonas. *An. bras. Dermatol.* 1998;63:433-8.

Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA, Fernández CT, Rondón AJ, Convit J. Adhesion molecules in lesions of American cutaneous leishmaniasis. *Exp Dermatol.* 1994;3(1):17-22.

Tolezano JE. Ecoepidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89:427-34.

Travi BL, Osorio Y, Melby PC, Chandrasekar B, Arteaga L, Saravia NG. Gender is a major determinant of the clinical evolution and immune response in hamsters infected with *Leishmania* spp. *Infect Immun.* 2002;70(5):2288-96.

Tuon FF, Sabbaga Amato V, Floeter-Winter LM, de Andrade Zampieri R, Amato Neto V, Siqueira França FO, Shikanai-Yasuda MA. Cutaneous leishmaniasis reactivation 2 years after treatment caused by systemic corticosteroids - first report. *Int J Dermatol* 2007;46(6):628-30.

Tuon FF, Amato VS, Graf ME, Siqueira AM, Nicodemo AC, Amato Neto V. Treatment of New World cutaneous leishmaniasis - a systematic review with a meta-analysis. *Int J Dermatol.* 2008;47(2):109-24.

Tuon FF, Amato VS. Mucosal leishmaniasis and miltefosine. *Clin Infect Dis.* 2007; 44:1525-6.

Vegas-Kerdel F, Kerdel F. American leishmaniasis. In: Canizares O, Harman R. *Clinical tropical dermatology*. 2nd ed. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1992. p.301-12.

Victoire K, De Doncker S, Cabrera L, Alvarez E, Arevalo J, Llanos-Cuentas A, Le Ray D, Dujardin J-C. Direct identification of *Leishmania* species in biopsies from patients with American tegumentary leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003;97:80-7.

Vogelsinger H, Weiler S, Djanani A, Kountchev J, Bellmann-Weiler R, Wiedermann CJ, Bellmann R. Amphotericin B tissue distribution in autopsy material after treatment with liposomal amphotericin B and amphotericin B colloidal dispersion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2006;57:1153-60.

Walsh TJ1, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, Bodensteiner D, Pappas P, Seibel N, Greenberg RN, Dummer S, Schuster M, Holcenberg JS. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever

and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med.* 1999;340(10):764-71.

Webster, LT. Drogas usadas na quimioterapia de infecções por protozoários. In: Gilman AG, Goodman LA, Rall TW, Murad F. *As bases farmacológicas da terapêutica*, 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;1986; p.695.

WHO - World Health Organization; Organização Panamericana da Saúde (OPAS). Controle das doenças transmissíveis no homem. Relatório oficial da Associação Americana de Saúde Pública, 13 ed. Washington, 1983; 420 p. (Publicação Científica, n. 442).

WHO - World Health Organization; Report of a WHO informal consultation on liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis. Geneva, 2005. (WHO/CDS/NTD/IDM/2007.4).

WHO - World Health Organization; The global burden of disease: 2004 update. Geneva, 2008.

WHO - World Health Organization (WHO technical Report Series); Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva, 22-26 March 2010;949:1-186.

Wingard JR, Kubilis P, Lee L, Yee G, White M, Walshe L, Bowden R, Anaissie E, Hiemenz J, Lister J. Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 1999; (6):1402-7.

Wingard JR, White MH, Anaissie E, Raffalli J, Goodman J, Arrieta A, L Amph/ABLC Collaborative Study Group. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.* 2000;31:1155-63.

Wong-Beringer A, Jacobs RA, Guglielmo BJ. Lipid formulations of amphotericin B: clinical efficacy and toxicities. *Clin Infect Dis.* 1998;27:603-18.

Wortmann G, Zapor M, Ressler R, Fraser S, Hartzell J, Pierson J, Weintrob A, Magill A. Liposomal Amphotericin B for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(5):1028-33.

Zaraa I, Karoui S, Osman AB. Effectiveness of intralesional meglumine antimoniate in the treatment of mucosal leishmaniasis of the Old World. *J Dermatol.* 2012;39:201-3.