

**Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz / FIOCRUZ
Instituto René Rachou – IRR
Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva**

**Estudo clínico para avaliação da eficácia e
segurança do uso intralesional de antimoniato de
meglumina no tratamento da leishmaniose
cutânea localizada**

por

Dario Brock Ramalho

Belo Horizonte,
Junho, 2017

DISSERTAÇÃO

MSC – IRR D. B. RAMALHO

2017

Dario Brock Ramalho

**Estudo clínico para avaliação da eficácia e segurança
do uso intralesional de antimoniato de meglumina no
tratamento da leishmaniose cutânea localizada**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Saúde Coletiva
do Instituto René Rachou, como
requisito parcial para a obtenção de
título de Mestre em Epidemiologia

Orientação: Ana Lúcia Teles Rabello

Coorientação: Gláucia Fernandes Cota

Belo Horizonte,

Junho, 2017

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
CRB/6 1975

R165e Ramalho, Dario Brock
2018

Estudo clínico para avaliação da eficácia e segurança do uso intralesional de antimoniato de meglumina no tratamento da leishmaniose cutânea localizada / Dario Brock Ramalho – Belo Horizonte, 2018.

XIV, 116 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 90-103

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Epidemiologia.

1. Leishmaniose cutânea 2. Leishmaniose cutânea/tratamento farmacológico 3. Leishmaniose cutânea/terapia I. Título II. Rabello, Ana Lúcia Teles (Orientação). III. Cota, Gláucia Fernandes (Coorientação)

CDD – 22. ed. – 616.936

Dario Brock Ramalho

**Estudo clínico para avaliação da eficácia e segurança
do uso intralesional de antimoniato de meglumina no
tratamento da leishmaniose cutânea localizada**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Saúde Coletiva - área de concentração Epidemiologia

Banca Examinadora

Prof. Dra.: Ana Lúcia Teles Rabello (Presidente)

Prof. Dr.: Gustavo Adolfo Sierra Romero

Prof. Dr.: Marcelo Rosandinski Lyra

Belo Horizonte,

Junho, 2017

Para Karen,

eu não estava errado, mas você tinha razão.

AGRADECIMENTOS

A respeito de um livro do séc 18, Durant pondera que o autor pode ser perdoado pela redação intragável: (...) *undertaking a mind-breaking task: to replace a theological with a natural ethic (...) a man undertaking such tasks might be allowed an occasional sin against a writer's moral obligation to be clear.* A mensagem do historiador é clara, para os demais mortais o texto deve ser escrito de maneira compreensível e agradável. Esta dissertação é obra modesta, mas o rascunho inicial apresentava-se confuso e críptico. Faz sentido, o texto guardava um sem número de ranços, incluindo a minha relutância em submeter a escrita e as ideias ao crivo de outros. Quero assim, primeiramente, agradecer a Ana Rabello e Gláucia Cota, pela elegância e paciência com que conduziram este esforço, permitindo tornar o produto deste projeto mais apresentável. Acredito ter aprendido algo, certamente menos do que deveria, mas sou muito grato por toda a experiência, que guardarei com carinho. Para Dra. Gláucia cabe ainda expressar toda minha admiração: a pós-graduação é voluntária, se fiz isso é por que fui movido pela mais absoluta tietagem. Aos pacientes, devo enorme gratidão pela confiança e inspiração, espero que tenhamos podido ajudar, afinal de contas é disso que trata todo este esforço. À Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais agradeço o apoio institucional que possibilitou minha participação neste projeto e na pós-graduação, assim como a dona Cássia e aos Russos, por viabilizarem a execução do projeto. Quero também agradecer a equipe do CRL-CpqRR: Rosiana, Nayara, Carol, Titi, Maria Senna, Hugo, Juliana, Lara, Jana e Daniel, agradeço a parceria e todo o auxílio, esse trabalho seria impossível sem a contribuição de vocês. Aos amigos e familiares agradeço a paciência e em especial por alegrarem os dias. Para Tomás e Maria: o amor que eu sinto por eles, esse papel não tem a capacidade de carregar.

RESUMO

A Leishmaniose cutânea (LC) é uma doença de importância mundial e para a qual não existe terapia específica de eficácia elevada e toxicidade baixa. No ano de 2010, o comitê para Leishmanioses da Organização Mundial de Saúde (OMS) expediu uma recomendação para que terapias locais ou tópicas, fossem incorporadas às guias de tratamento como alternativa terapêutica. Mesmo constando nestas novas recomendações, a aplicação do antimoniato de meglumina (AM), por via intralesional, ainda necessita de maior embasamento em evidência, sobre sua aplicação nas Américas. O objetivo deste estudo é prover evidência sobre eficácia e segurança do tratamento da LC com a aplicação intralesional de AM. Trata-se de um ensaio clínico fase II, com apenas um braço de intervenção, realizado em um centro de referência para o tratamento da leishmaniose no Brasil. Foram elegíveis pacientes que apresentavam até três lesões de LC e com diagnóstico parasitológico confirmado. Os pacientes foram submetidos a aplicações semanais de AM até o máximo de oito infiltrações, utilizando uma técnica padronizada e validada. A resposta ao tratamento, cura, foi avaliada em consonância com as recomendações vigentes para ensaios clínicos em LC propostos em 2013. Participaram do estudo 38 indivíduos (22 homens e 16 mulheres), não ocorreram abandonos ou perdas de seguimento. A idade dos pacientes variou entre 14 e 75 anos (mediana de 42,5) e eles apresentavam mediana de 3 meses de duração da doença. O tipo de lesão mais encontrado foi úlcera (34 dos 38 pacientes). O número total de lesões foi de 43, distribuídas em membros (80%), cabeça (14%) e tronco (7%). A cura inicial, definida como a completa re-epitelização da lesão e ausência de qualquer atividade inflamatória, ocorreu em 33 dos 38 pacientes (86,8%). Com média de número de infiltrações de 6, realizadas ao longo de 40 dias (mediana), observaram-se eventos adversos na maior parte das vezes leves e relacionados ao sítio de aplicação. Os eventos adversos laboratoriais foram infrequentes, o que sugere a possibilidade de se reduzir o intervalo de monitoramento laboratorial durante o tratamento. Os nossos resultados sugerem que a infiltração intralesional de AM apresenta eficácia não inferior à obtida com o tratamento sistêmico com os derivados de antimônio, o que a torna elegível como mais uma das alternativas para o tratamento de LC. Por fim, a abordagem intralesional se mostrou segura e de monitoramento mais simples, quando comparado com a opção vigente, o tratamento sistêmico com AM, de uso disseminado nos serviços de saúde pública das Américas.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea, Drogas, Terapias alternativas

ABSTRACT

Cutaneous leishmaniasis (CL) is a world-wide health problem and to date there is no highly effective and minimally toxic therapy for the disease. In 2010, the World Health Organization Expert Committee on Leishmaniasis recommended the inclusion of local treatments among the acceptable therapeutic alternatives for New World leishmaniasis; however, the meglumine antimoniate (MA) intralesional infiltration is still supported by weak evidence in the Americas. The aim of this study is to provide evidence about efficacy and safety of a standardized MA intralesional infiltration technique for the treatment of localized CL. This study is a one arm phase II trial conducted at a reference center for CL treatment in Brazil. CL cases with parasitological confirmation presenting less than 4 lesions were eligible to be treated with weekly pentavalent antimony intralesional infiltration by using a standardized and validated technique, up to a maximum of 8 infiltrations. Cure was assessed according to current methodological recommendations for CL trials proposed in 2013. A total of 38 patients (22 men and 16 women) were included and had initial cure assessed. The age of patients ranged from 14 to 75 (median, 42.5) years and the median duration of lesions was 3 months. Thirty-four of the 38 patients (90%) had ulcerated lesions. The total number of lesions was 43 and they were distributed in the limbs (80%), head (14%) and trunk (7%). Initial cure, defined as full re-epithelialization and disappearance of any other signs of inflammation, was achieved in 33 of the 38 patients (86,8%). Overall, patients received a median of 6 infiltrations during a median treatment period of 40 days. Adverse events were scarce, mainly local and related to the injection site, laboratorial events were negligible, suggesting the possibility of bypassing regular laboratorial monitoring with this approach to CL therapy. Our results confirm that MA intralesional infiltration has an acceptable efficacy for CL treatment. This therapeutic approach represents a simpler monitoring regimen and a safer alternative to the current systemic antimony treatment for CL, widely used in public health in the Americas.

Key words: Cutaneous Leishmaniasis, Drugs, Alternative Therapies

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Evolução dos casos novos de leishmaniose tegumentar notificados ao SINAN, segundo ano de notificação, em Minas Gerais, de 2010 a 2015

TABELA 2 – Características dos pacientes com diagnóstico de LC não incluídos no estudo RBR-44KG5X, CRL-CpqRR

TABELA 3 – Características demográficas e clínicas dos pacientes tratados com infiltração intralesional de AM no CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 4 – Resultados dos exames parasitológicos (*imprint* e cultura para *Leishmania*) entre os 34 pacientes submetidos a biópsia no CRL, 2015-2016

TABELA 5 – Principais características das lesões de LC dos 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL- CpqRR, 2015-2016

TABELA 6 – Principais medidas das lesões apresentadas pelos 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 7 – *Resposta inicial e Cura inicial* com tratamento por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 8 – Análise univariada dos fatores associados ao desfecho *cura* no D90 entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 9 – Modelo final da análise de regressão logística para *cura* no D90 ± 15 dias entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 10 – Eventos adversos locais notificados entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

TABELA 11 – Eventos adversos sistêmicos notificados entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Alternativas para o tratamento da leishmaniose tegumentar no Novo Mundo

QUADRO 2 – Relação de publicações descrevendo tratamento intralesional com derivados de antimônio nas Américas, base de dados MEDLINE e LILACS, pesquisa em setembro de 2016

QUADRO 3 – Cronograma de condução do estudo: intervenção terapêutica, monitoramento clínico-laboratorial e avaliação de desfechos

QUADRO 4 – Critérios para avaliação da intensidade dos eventos adversos clínicos e laboratoriais

QUADRO 5 – Critérios para avaliação da intensidade dos eventos adversos laboratoriais

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Curva de sobrevida de Kaplan-Meier (tempo até cura) para 33 pacientes curados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

LISTA DE ABREVIACÕES

LT – Leishmaniose tegumentar

IDRM – Intradermorreação de Montenegro

LC – Leishmaniose cutânea

LCM – Leishmaniose mucosa

IFI – Imunofluorescência

ELISA – Ensaio imunoenzimático

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

CpqRR - Centro de Pesquisas René Rachou

PCPP Pesquisa clínica e Políticas Públicas e Doenças Infecto-Parasitárias

Sb^v - Antimonial pentavalente

PCR - Reação em cadeia da polimerase

IL – intralesional

INI-FIOCRUZ -Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz

MS - Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial da Saúde (WHO)

OPAS - Organização Pan-americana para Saúde

TGO – Transaminase oxalacética

TGP – Transaminase pirúvica

DNA – Ácido desoxirribonucleico

NNN - Neal, Novy, Nicolle (meio de cultura)

SINAN – Sistema Nacional de Agravos de Notificação

MS – Ministério da Saúde

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde

SUS – Sistema Único de Saúde

CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS

ECG - Eletrocardiograma

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

GT LEISH - Grupo Técnico de Leishmanioses do Ministério da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1 Diagnóstico clínico e laboratorial da leishmaniose tegumentar.....	20
3.2 Tratamento da leishmaniose cutânea.....	25
3.2.1 Antimoniais pentavalentes	25
3.2.2 Alternativas ao antimônio.....	27
3.2.3 Uso intralesional do antimônio.....	33
3.3 Risco da recidiva mucosa.....	39
4 METODOLOGIA	43
4.1 Desenho do estudo.....	43
4.2 Aspectos éticos e registro do estudo.....	43
4.3 Local de realização do estudo.....	43
4.4 Recrutamento, critérios de inclusão e exclusão.....	43
4.4.1 Critérios de inclusão.....	44
4.4.2 Critérios de exclusão.....	44
4.5 Intervenção.....	44
4.6 Definições adotadas.....	44
4.6.1 Resposta inicial.....	45
4.6.2 Cura inicial.....	45
4.6.3 Cura definitiva.....	45
4.6.4 Falha terapêutica	45
4.7 Critérios para suspensão do tratamento.....	45
4.7.1 Critérios para suspensão temporária.....	45
4.7.2 Critérios para suspensão definitiva do tratamento.....	45

4.8 Desfechos de interesse.....	46
4.8.1 Desfechos primários.....	46
4.8.1A Cura inicial.....	46
4.8.1B Cura definitiva.....	46
4.8.2 Desfechos secundários.....	47
4.8.2A Eventos adversos.....	47
4.8.2B Falha terapêutica.....	47
4.9 Cálculo da amostra.....	47
4.10 Técnica de infiltração intralesional de AM.....	48
4.11 Condução do estudo.....	49
4.12 Análise estatística.....	50
4.12 Definições e graduação adotadas para classificação de eventos adversos	50
4.12.1 Definição de evento adverso.....	50
4.12.2 Definição de evento adverso grave.....	50
4.12.3 Avaliação dos eventos adversos.....	51
4.12.4 Avaliação da relação de causalidade.....	53
4.13 Terapia de resgate.....	54
4.14 Critério para interrupção do estudo.....	54
4.15 Métodos diagnósticos utilizados	55
4.15.1 Procedimentos para obtenção das amostras.....	55
4.15.1 A Biópsia da lesão	55
4.15.1 B Aspirado da borda da lesão	56
4.15.2 Métodos laboratoriais para o diagnóstico de LC.....	56
4.15.2 A Imprint.....	56
4.15.2 B Cultivo para Leishmania.....	56
4.15.2 C Exame anatomopatológico ou histológico.....	57
4.15.2 D Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	57
4.16 Análise dos dados	58

5 RESULTADOS.....	59
5.1 Características da população estudada.....	59
5.2 Resultados dos exames diagnósticos e características da doença.....	61
5.3 Tratamento com infiltração intralesional de AM.....	64
5.4 Evolução clínica em relação à cura.....	65
5.5 Eventos Adversos.....	69
5.5.1 Eventos clínicos.....	69
5.5.2 Eventos laboratoriais e ECG.....	73
6 DISCUSSÃO.....	75
7 CONCLUSÃO	87
8 REFERÊNCIAS.....	88
ANEXOS	102

1 INTRODUÇÃO

A inexistência de uma terapia eficaz e pouco tóxica constitui-se no grande desafio para a abordagem clínica dos indivíduos acometidos por leishmaniose cutânea (LC). A droga de primeira escolha, segundo as recomendações vigentes (BRASILa, 2017; OMS 2010; OPAS OMSa 2013), ainda é o antimônio pentavalente (Sb^V), pró-droga do antimônio trivalente (Sb^{III}), proposto por Gaspar Vianna, no Instituto Oswaldo Cruz, em 1912, quando do uso do tártaro emético (VIANNA G, 1912; FRAIHA NETO, 1986). São dois os derivados pentavalentes de antimônio disponíveis: antimoniato de meglumina (AM) e estibugluconato de sódio (SSG), sendo que apenas o primeiro deles é distribuído no Brasil. Outras opções terapêuticas consideradas pelo Ministério da Saúde (MS) do Brasil, e disponibilizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), são o isotionato de pentamidina e a anfotericina B, medicamentos com potencial de toxicidade igualmente preocupante (BRASILb, 2016).

Outras possibilidades terapêuticas encontram-se também descritas, embora sustentadas por evidência limitada, especialmente nas Américas, tais como azóis por via oral, paromomicina pomada (KIM *et al.*, 2009), termoterapia (CARDONA-ARIAS *et al.*, 2015), crioterapia (GRIENSVEN *et al.*, 2016), terapia por radiofrequência, infiltração intralesional de derivados de antimônio e, mais recentemente, miltefosina (GONZÁLEZ *et al.*, 2008). Experiência com a infiltração intralesional de antimoniato de meglumina (AM) vem se acumulando há várias décadas, em especial no Velho Mundo (MORIZOT *et al.*, 2013), mas também nas Américas (SOTO *et al.*, 2013), incluindo o Brasil (GADELHA *et al.*, 1990; OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1997; SILVA *et al.* 2016). Dentre suas vantagens, a abordagem destaca-se por não exigir o investimento em equipamentos e pelo uso de doses mais baixas de antimônio do que as utilizadas no tratamento sistêmico, possivelmente gerando redução da toxicidade. Em 2013, a terapia intralesional com AM foi incluída em guia regional de manejo das leishmanioses (OPAS OMSa, 2013), apesar de ser apresentada como opção terapêutica sustentada por evidência e força de recomendação muito baixas.

Recentemente, o MS incorporou a abordagem terapêutica intralesional ao arsenal terapêutico para o tratamento da LC (BRASILa, 2017).

Dois pontos, contudo, precisam ser salientados em relação a esta modalidade terapêutica: a escassez de dados de eficácia e segurança obtidos por estudos metodologicamente adequados, além do desconhecido risco de complicação mucosa tardia relacionado à terapia local. Por outro lado, análises dos registros de casos de leishmaniose tegumentar (LT), no Brasil e em outros países das Américas (OPAS OMSb, 2016) demonstram a ocorrência de número expressivo de óbitos de pacientes acometidos pela doença, que tem evolução sabidamente não fatal. Tal constatação justifica a suspeita da toxicidade relacionada ao tratamento ser o fator determinante da mortalidade, o que torna ainda mais urgente a identificação de outras alternativas para o tratamento das leishmanioses.

Assim, considerando a importância epidemiológica da LC no Brasil e a realidade descrita acima, este projeto tem como objetivo contribuir para o reconhecimento da eficácia e segurança da infiltração intralesional de AM para o tratamento da forma localizada de LC.

2 OBJETIVOS DO ESTUDO

2.1 Objetivo geral

Avaliar eficácia e segurança da terapia intralesional com antimoniato de meglumina em pacientes com a forma localizada de leishmaniose cutânea, em Belo Horizonte, MG.

2.2 Objetivos específicos:

- 1- Descrever a taxa de resposta inicial aos 45 dias do início do tratamento intralesional com antimoniato de meglumina;
- 2- Descrever a taxa de cura inicial aos 90 dias do início do tratamento intralesional com antimoniato de meglumina;
- 3- Avaliar a taxa e a intensidade de eventos adversos clínicos e laboratoriais observados durante e após terapia intralesional com antimoniato de meglumina.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Estima-se que, anualmente, de 0,7 a 1,2 milhões de indivíduos sejam acometidos por leishmaniose tegumentar, com dez países respondendo por 70 a 75% dos casos globais: Afeganistão, Argélia, Irã, Síria, Etiópia, Sudão do Norte, Costa Rica, Peru, Colômbia e Brasil, (ALVAR *et al.*, 2012). Destes países, o Brasil é o terceiro com o maior número de casos novos registrados no mundo (BRASILa, 2017), após Síria e Afeganistão, que se encontram em situação epidêmica, em virtude dos conflitos armados e deslocamentos maciços de suas populações (AL SALEM *et al.*, 2016). Nas Américas, a LT é observada desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (exceto Chile e Uruguai). De acordo com dados disponíveis no portal eletrônico do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde - DATASUS, o número total de casos notificados no Brasil entre os anos de 2007 e 2012 foi de 139.649, com média anual de 21.834 casos e taxa de incidência média de 11,4 casos/100mil habitantes a cada ano (BRASILf, 2016). Os dados dos sistemas de vigilância revelam também fenômeno inesperado e de grande relevância: altas taxas de mortalidade da doença no Brasil, o que exige esclarecimento.

A partir dos dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foi verificado que no período de 2007 a 2014, no Brasil, registrou-se um total de 996 óbitos de pacientes com LT (média anual de 124,5 óbitos) e uma letalidade total acumulada de 0,55% (0,09% por LT e 0,46 por outras causas). Desse total de óbitos, 155 (15,56%) foram por LT e 841 (84,44%) registrados como por outras causas. (BRASILb, 2016)

Tratam-se de óbitos registrados em até 180 dias da notificação de LT que produzem uma taxa de letalidade média nacional de 0,55 óbitos por cem casos (número de óbitos/número de casos LT notificados x 100). Para colocar esta alarmante taxa em perspectiva, uma estratégia útil é a comparação com a letalidade para dengue observada no Brasil, estimada para 2016, até este momento, em 0,04 óbitos por cem casos (BRASILc, 2016). Confirmando a observação nacional, uma análise das notificações para LT no estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2016) nos anos de 2010 a 2015 (TABELA 1) revelou que, dentre os 8.034 casos de LT notificados, registraram-se 111 óbitos (letalidade de 1.38/100 casos).

TABELA 1 - Evolução dos casos novos de leishmaniose tegumentar notificados ao SINAN, segundo ano de notificação, em Minas Gerais, de 2010 a 2015

Ano da Notificação	Ignorado ou Branco	Cura	Abandono	Óbito por LT	Óbito por outra causa	Transferência	Mudança de Diagnóstico	Total
2010	172	1697	28	1	17	23	30	1968
2011	209	1476	22	8	28	38	40	1821
2012	128	809	17	4	14	26	22	1020
2013	122	624	10	5	10	25	47	843
2014	152	843	17	4	4	39	36	1095
2015	264	941	13	2	14	21	32	1287
Total	1047	6390	107	24	87	172	207	8034

Fonte: MINAS GERAIS, 2016

A mortalidade entre pacientes com diagnóstico de LC pode ainda ser avaliada através de dados da literatura científica. Em ensaio clínico nacional (LYRA *et al.*, 2016) descrevendo 36 pacientes com LC submetidos ao tratamento sistêmico com dose plena de 15-20 mg/kg de AM ao dia e outros 36 pacientes tratados com “dose baixa” de AM (5mg/kg/dia), o único óbito registrado ocorreu em um paciente do grupo com a dose plena, grupo este que apresentou ainda maior incidência de toxicidade pancreática, com um risco relativo de 2.05 para hiperlipasemia ($p=0.003$). Ainda, em revisão sistemática (OLIVEIRA *et al.*, 2011) sobre a toxicidade do tratamento para LC, os mesmos autores identificaram três óbitos entre 4359 pacientes tratados por via sistêmica com AM. Além destes, outros autores reportaram óbitos relacionados ao uso do AM (GOODWIN L.G., 1974; RODRIGUES *et al.*, 1999; COSTA *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2005; HAJLAOUI *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2007).

Assim, são várias as evidências sugerindo a associação entre mortalidade e exposição ao AM durante o tratamento para LC, assumindo-se os óbitos marcadores *proxy* da toxicidade da terapia. Para explorar esta hipótese, além de justificar a relevância da identificação de alternativas terapêuticas ao AM sistêmico, serão detalhados nesta revisão alguns aspectos epidemiológicos e clínicos da LC, as alternativas terapêuticas atualmente disponíveis, incluindo as

evidências favoráveis e contrárias para o uso da infiltração intralesional de AM, abordagem esta que se constitui no objeto de estudo desta dissertação.

3.1 Diagnóstico clínico e laboratorial da leishmaniose tegumentar

As leishmanioses compreendem grupo de doenças infecciosas crônicas, causadas por diversas espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. A evolução da doença após a infecção e as diferentes formas de apresentação clínica da LT resultam de uma complexa interação que envolve a espécie de *Leishmania* (BLUM *et al.*, 2012), a imunidade do hospedeiro (), e, possivelmente, a presença de coinfeções (BRITO *et al.*, 2014 ;HARTLEY *et al.*, 2012; ITO *et al.*, 2015; AZEREDO-COUTINHO *et al.*, 2016). As espécies de *Leishmania* causadoras de LT nas Américas, também conhecida como leishmaniose do Novo Mundo, são: *L. (L.) mexicana*, *L. (L.) amazonensis* e as espécies do subgênero *Viannia*. Dentre elas, as infecções por *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis* têm a particularidade de poderem evoluir para o acometimento mucoso. No estado de Minas Gerais, a espécie predominante é a *L. (V.) braziliensis* (PASSOS *et al.*, 1999). As diferentes espécies podem determinar síndromes clínicas distintas e exibem graus variados de sensibilidade às drogas, ocorrência de complicação mucosa (OMS, 2010), bem como de cura espontânea (COTA *et al.*, 2016), configurando múltiplos cenários que precisam ser considerados na abordagem diagnóstica e terapêutica.

A infecção pode cursar de maneira assintomática ou progredir para a LC, com formação de pápulas, nódulos, placas e, principalmente, úlceras. Podem ocorrer, também, invasão de linfonodos regionais e disseminação metastática. O período de incubação da doença no homem é, em média, de 60 dias, variando de duas semanas a 24 meses. As formas da LT são classificadas como (BRASILa, 2017): LC localizada, LC recidiva cútis, LC disseminada, LC difusa e a leishmaniose mucosa (LM). Na LC localizada:

A lesão ulcerada é precedida por uma mácula, que perdura de um a dois dias depois da picada infectante. A mácula evolui formando uma pápula que aumenta progressivamente produzindo, geralmente, uma úlcera. A linfadenomegalia satélite pode ocorrer antes, durante ou após o aparecimento da lesão. A úlcera típica é indolor, arredondada ou ovalada, com base eritematosa, infiltrada e de consistência firme, bordas bem delimitadas e elevadas, e fundo avermelhado com granulações

grosseiras; costuma localizar-se em áreas da pele mais expostas a picada de insetos (...) com tendência a cura espontânea e apresenta boa resposta ao tratamento, podendo ser única ou múltipla (até 20 lesões em um mesmo segmento corporal). A infecção bacteriana, quando associada, pode causar dor local e produzir exsudato seropurulento que, ao dessecar-se em crostas, recobre total ou parcialmente o fundo da úlcera (BRASILa, 2017).

De acordo com dados nacionais, a forma localizada representa a maior parte dos casos de LC notificados, correspondendo a 78%, 61,7% e 71% dos casos, em estudos realizados no Acre (SILVA-NUNES *et al.*, 2008), Mato Grosso do Sul (MURBACK *et al.*, 2011) e Paraná (PONTELLO JUNIOR *et al.*, 2013), respectivamente. Ainda sobre a LC localizada:

Outros tipos de lesões cutâneas menos frequentes podem ser encontrados. As lesões iniciais costumam ser nodulares, localizadas profundamente na hipoderme, ou pequenas pápulas, semelhantes a picada de inseto, que evoluem aumentando em tamanho e profundidade (lesões pápulo-tuberosas) e ulcerando no vértice. As lesões vegetantes caracterizam-se pelo aspecto papilomatoso, úmido e de consistência mole. As lesões verrucosas caracterizam-se por superfície seca, áspera, com presença de pequenas crostas e de descamação. Estes dois tipos de lesões podem ser primários ou evoluir a partir de úlceras. Ao redor da lesão principal, poderão surgir induração subcutânea e pápulas satélites que podem coalescer e formar placas. Novas lesões de LC podem surgir em áreas traumatizadas. A linfangite nodular, com ou sem linfadenopatia regional, quando presente, costuma estar recoberta por pele íntegra ou eritematosa (forma esporotricóide). Eventualmente, pode haver formação de úlceras no trajeto, porém não é comum observar a formação de gomas, com supuração e fistulização das lesões. Caso não tratadas, as lesões podem evoluir para a cura espontânea em período de alguns meses a poucos anos, podendo também permanecer ativas por vários anos e coexistir com lesões mucosas de surgimento posterior. As lesões cutâneas, ao evoluir para a cura, costumam deixar cicatrizes atróficas, deprimidas, com superfície lisa, áreas de hipo ou de hiperpigmentação e traves fibrosas. Algumas vezes podem tornar-se hipertróficas, ou podem passar despercebidas por sua coloração, tamanho, forma ou localização.

(BRASILa, 2017)

A recidiva cútis é a reativação localizada geralmente na borda da lesão após cicatrização da úlcera. Já a LC disseminada responde por cerca de 2% dos casos notificados e é caracterizada pela presença de 20 ou mais lesões, de aspecto diverso, mas frequentemente papuloso ou de aparência acneiforme, acometendo vários segmentos corporais e envolvendo com frequência a face e o tronco:

A história natural da doença nestes pacientes inicia com uma ou várias lesões localizadas com as características clássicas de úlceras de fundo granuloso e bordas elevadas. A adenomegalia satélite, observada em mais da metade dos casos da forma localizada da doença, raramente é detectada nos pacientes com a forma disseminada e, quando se apresenta, é de forma discreta. O fenômeno de disseminação ocorre posteriormente ao desenvolvimento das lesões primárias, provavelmente por disseminação do parasito por via hemática ou via linfática, mais ou menos aguda, que se estabelece em poucos dias, as vezes em 24 horas, causando lesões distantes do local da picada. A disseminação pode ocorrer após tratamento já iniciado para a forma cutânea localizada. Outros aspectos a serem destacados nesta forma clínica são o

acometimento mucoso concomitante, que tem sido observado em até 30% dos pacientes, e as manifestações sistêmicas, como febre, mal-estar geral, dores musculares, emagrecimento, anorexia, entre outros, que podem ocorrer em alguns casos, sugerindo que há parasitemia. O encontro do parasito na forma disseminada é baixo quando comparado com a forma difusa, forma da qual também se diferencia pela presença de IDRMs positiva e ulcerações. Os pacientes apresentam títulos elevados de anticorpos séricos antileishmania, resposta variável na IDRMs e na resposta linfoproliferativa in vitro. Outro aspecto relevante no exame histopatológico é a presença de acometimento folicular que se correlaciona com a expressão clínica acneiforme. Em relação a resposta ao tratamento específico, pode-se afirmar que apresenta resultados variáveis com o uso de antimoniato de meglumina. A maioria dos pacientes necessita de tratamentos adicionais para alcançar a cura clínica, mas podem existir diferenças regionais. (BRASILa, 2017)

Mais raramente, pode ocorrer a LC difusa, que é grave pela refratariedade ao tratamento e observada em pacientes anérgicos (com deficiência específica na resposta imune celular a antígenos de *Leishmania* spp.), caracterizando-se por má cicatrização, comprometimento dérmico, de natureza crônica, com recidivas frequentes e anergia ao teste intradérmico de Montenegro (COSTA, 2003). A maioria dos casos resulta de infecção adquirida na infância, iniciando-se como uma lesão única, com má resposta ao tratamento e evoluindo lentamente com formação de placas e nodulações recobrando grandes extensões cutâneas. Esta forma clínica no Brasil associa-se apenas a *L. (L.) amazonensis* (BRASILa, 2017), sendo a maioria dos casos descritos no Maranhão (40%), Pará (20%), Bahia (12,5%) e Mato Grosso (10%) (COSTA, 2003).

O aparecimento de lesões nasais, meses a anos após a ocorrência da lesão cutânea, caracteriza a LM, geralmente de evolução indolente e desfigurante, que tem a mucosa nasal como local mais afetado, mas pode ainda acometer lábios, nasofaringe e/ou laringea. Estima-se, com base em dados de notificação, que esta forma clínica represente em torno de 5-8% do total de casos de LT.

A forma mucosa tem como queixas obstrução nasal, eliminação de crostas, epistaxe, disfagia, odinofagia, rouquidão, dispneia e tosse. Raramente há queixa de prurido nasal e dor. Entretanto, na ocorrência de infecção secundária e sinusite, pode haver dor local e cefaléia. Sugere-se sempre examinar as mucosas dos pacientes com leishmaniose cutânea, porque as lesões mucosas iniciais podem ser assintomáticas. Ao exame da mucosa, podem ser observados eritema, infiltração, crostas, pontos sangrantes, erosão e ulceração com fundo granuloso. Caso haja infecção secundária, as lesões podem apresentar-se recobertas por exsudato mucopurulento e crostas. Na mucosa do nariz, pode haver perfuração ou até destruição do septo cartilaginoso. Na boca, pode haver perfuração do palato mole. Nas lesões crônicas e avançadas, pode haver mutilações com perda parcial ou total do nariz, lábios, pálpebras, causando deformidades e conseqüente estigma social (BRASILa, 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o termo LM só se aplica verdadeiramente à doença nas Américas e se refere à forma caracterizada pelo acometimento mucoso tardio (OMS, 2010).

Já de acordo com Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, produzido pelo MS do Brasil (BRASILa, 2017), a doença pode ser assim dividida: forma mucosa tardia, que é a mais comum, surgindo após a cura da LC e associada a lesões múltiplas ou única de longa duração; mucosa indeterminada, que se apresenta clinicamente isolada e sem evidência de LC anterior, possivelmente associada a infecções subclínicas ou lesões pequenas não ulceradas e de evolução rápida que teriam passado despercebidas sem deixar cicatrizes perceptíveis; mucosa concomitante, quando a lesão mucosa ocorre simultaneamente mas distante da lesão cutânea; mucosa contígua, quando ocorre por propagação direta de lesão cutânea, situada próxima a orifícios naturais, para o tecido mucoso das vias aerodigestivas superiores e outros; mucosa primária, ocorrendo eventualmente pela picada do vetor diretamente na mucosa ou semimucosa (BRASILa, 2017).

As evidências sugerem que, entre os pacientes com LC que evoluem para LM, 90% ocorrem dentro de dez anos. Destes, 50% ocorrem nos primeiros dois anos após a cicatrização das lesões cutâneas. A principal espécie causadora de LM em nosso país é a L. (V.) braziliensis, porém L. (V.) guyanensis pode também causar lesão mucosa. Esta forma da doença se caracteriza por apresentar IDRMM fortemente positiva, mas com difícil confirmação parasitológica devido à escassez parasitária, e por apresentar difícil resposta terapêutica. O tratamento exige doses maiores de drogas e recidivam com mais frequência (7,5%) que a forma cutânea (4,3%). É também mais susceptível às complicações, principalmente as infecciosas, podendo evoluir para o óbito em 1% dos casos (BRASILa, 2017).

O diagnóstico de LT se dá a partir de uma apresentação clínica e contexto epidemiológico compatíveis, auxiliado por exames complementares. A confirmação etiológica exige a demonstração do parasito, seja de forma direta (visualização direta ou cultura) ou indireta (métodos moleculares). A pesquisa direta das formas amastigotas em lâmina tem sido descrita por meios diversos e sensibilidade variável, a saber: pesquisa em “*imprint*”, ou seja, esfregaço produzido por aposição à fresco em lâmina de fragmento de biópsia (70 a 75%; ESPIR *et al.*, 2016); “*press imprint*”, que consiste na pesquisa em microscópio utilizando fragmento de biópsia comprimido entre duas lâminas (85,3%, SOUSA *et al.*, 2014) ou esfregaço realizado a partir da aspiração (76 a 84%;

HOSSEINZADEH *et al.*, 2012) ou escarificação da lesão (43 a 63%; MELO *et al.*, 2011).

Ainda, a análise em cortes histológicos dos fragmentos de biópsia tem revelado sensibilidade inferior à da pesquisa direta (34% a 44%; ESPIR *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2014). Já a cultura tem sensibilidade similar ao exame direto, especialmente quando realizada a partir da aspiração da borda da lesão (69,7%; LUZ *et al.*, 2009). Quando realizada a partir de fragmento de biópsia de pele, apresenta alto percentual de contaminação, o que provavelmente contribui para a redução de sua sensibilidade (50%; WEIGLE *et al.*, 1987).

Por fim, os métodos moleculares, especificamente a reação em cadeia da polimerase (PCR), têm sido descritos como de alto desempenho - sensibilidade entre 97,1% e 100% (GOTO & LINDOSO, 2010), embora sejam reconhecidos como de alto custo e necessitem de estrutura laboratorial de alta complexidade. Nenhum kit molecular encontra-se registrado no Brasil para o diagnóstico da LC, mas diferentes testes produzidos por metodologia “*in house*” vem sendo usados em centros de referência para o tratamento da leishmaniose no país, com significativa variação metodológica (PEREIRA *et al.*; 2008; GOMES *et al.*; 2008).

Testes baseados na avaliação da resposta imune do hospedeiro, especificamente a dosagem de anticorpos séricos pelas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA), também têm sido descritos como úteis para o diagnóstico das formas mucosa e cutânea disseminada, que normalmente cursam com títulos de anticorpos mensuráveis (BRASILa, 2017; VRIES *et al.*, 2015). Baseado na resposta imune celular, a reação cutânea de hipersensibilidade tardia (intradermorreação de Montenegro, IDRM) apresenta alta frequência de positividade na LC (SILVA *et al.*, 2007), mas perde em especificidade, não permitindo a diferenciação entre infecção passada e doença ativa. De nota, a produção do antígeno para a IDRM está interrompida no Brasil desde 2015 por inexistência de plataformas que atendam todas as exigências legais para sua produção, sem previsão de retomada da distribuição.

3.2 Tratamento da leishmaniose cutânea

As principais evidências sobre a eficácia do tratamento para LC nas Américas foram reunidas em duas revisões sistemáticas. A primeira delas (GONZALEZ *et al.*, 2009), publicada em 2008, foi produzida pela Colaboração Cochrane e reuniu 38 estudos controlados e 2.728 participantes. Em 2013, esta revisão foi atualizada (REVEIZ *et al.*, 2013) com os dados de mais 10 estudos publicados no período 2009 a 2012. Tais revisões representam a compilação da evidência de maior qualidade disponível sobre a eficácia terapêutica para LT nas Américas, reunindo os resultados dos estudos randomizados já publicados nas principais bases de dados (PUBMED, EMBASE, LILACS e *The Cochrane Central Register of Controlled Trials*) até 2012. Em síntese, para *L. (V.) braziliensis*, a droga mais estudada é o antimoniato de meglumina, injetável, por período de 20 dias, cuja taxa de cura global em três meses encontra-se entre 71,3 e 91,4%. Para todas as outras espécies de leishmânia e opções terapêuticas, o volume de informações compiladas é significativamente menor, limitando as recomendações de uso a situações específicas.

3.2.1 Antimoniais pentavalentes

O antimoniato de meglumina, formulação pentavalente mais usada nas Américas, é apresentado em ampolas de 5mL contendo 1,5g de N-metilglucamina, o que equivale a 405mg de Sb^V por ampola e a 81mg de Sb^V por ml, para uso por via intramuscular (IM) ou intravenosa (IV) (BRASILa, 2017). Com indicação principalmente consagrada pelo uso, têm efeitos colaterais graves e bem conhecidos: toxicidades cardíaca, hepática, pancreática, renal e do sistema musculoesquelético. Trata-se de problema antigo:

In contrast to this exciting field in epidemiology, prospects for advances in the chemotherapy of leishmaniasis are gloomy. I never imagined when I qualified in medicine 25 years ago that I would review antimonial therapy in 1985. Heavy metal therapy was the mainstay of 19th century medicine. The experts in this field today are physicians treating leishmaniasis. There has been no advance in drug formulations for primary therapy that has benefited the patient for forty years. Parental pentavalent antimonials are still the drugs of choice for most of the forms of leishmaniasis (...) I may well be an old man before I see such oral preparations used in our field clinic. (MARSDEN, 1985)

A cardiotoxicidade traduz-se, principalmente, por distúrbios da repolarização ventricular, que incluem alterações da onda T (achatamento ou inversão) e aumento do intervalo QT. Todas estas alterações são dose e tempo dependentes (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Os antimoniais estão contraindicados em pacientes que fazem uso de betabloqueadores (principalmente sotalol e propranolol), antidepressivos tricíclicos ou antiarrítmicos, como amiodarona e quinidina. Os efeitos colaterais relacionados ao aparelho gastrointestinal são frequentes e incluem náuseas, anorexia e dor abdominal. A hepatotoxicidade pode ocorrer em até 50% dos pacientes tratados. Embora a insuficiência renal secundária ao uso AM, nas doses habituais, seja evento raro (BLUM *et al.*, 2014), qualquer diminuição do ritmo de filtração renal potencializa os efeitos tóxicos dos antimoniais, o que diante da inexistência de TABELA de ajuste de doses, contraindica o uso em pacientes com qualquer grau de disfunção. Sobre a farmacodinâmica das formulações de antimônio, um autor britânico dedicado ao estudo da leishmaniose na primeira metade do século anterior faz a seguinte observação:

These drugs, under whatever name, are simply solutions of antimony pentoxide in a highly hydroxylated organic medium and making them is cookery, not chemistry (...) When one puts it into a patient about 80 or 90% of the antimony it contains is excreted by the kidneys in the first few hours, so one is relying on what is left in the animal, soaked into the tissue cells, which later reduce it to trivalent antimony. This is the killer, hopefully, of the parasite but unfortunately sometimes of the patient.

(GOODWIN L.G., 1974)

Esta visão é reforçada em publicações recentes sobre o tema (COELHO *et al.*, 2014; FRIEDRICH *et al.*, 2012; KATO *et al.*, 2014), que ressaltam o papel do acúmulo da droga, por deposição de Sb^{III} e por sua eliminação lenta, com baixa concentração na pele e elevado acúmulo no baço, o que revela uma farmacocinética mais apropriada ao tratamento das formas viscerais. A esse respeito, a concentração residual entre os dias 55 e 95 do pós-tratamento, em macacos *rhesus*, foi assim descrita:

*<200 ng/g sistema nervoso central, timo, estômago, cólon, pâncreas e dentes
>200 e <1000 ng/g linfonodos, rins, adrenais, ossos, músculos, coração e pele;
>1000 ng/g na tireóide, unhas, fígado, baço, vesícula biliar e bexiga.*

(GRIMALDI *et al.*, 2010)

O metabolismo dos derivados do antimônio é renal, sendo que 80% do medicamento é excretado nas primeiras seis horas após a administração parenteral. Após 16 horas, seus níveis plasmáticos representam apenas 1% dos valores da concentração plasmática máxima. A utilização sistêmica do antimônio resulta, portanto, em uma concentração pobre na pele, ao mesmo tempo em que produz um pico sérico pouco relacionado à eficácia da droga (NEVES *et al.*, 2009). Dados de farmacocinética dos antimoniais revelam uma distribuição bimodal, sendo a toxicidade relacionada ao acúmulo do Sb^{III}:

This rapid elimination is consistent with previous studies of sodium stibogluconate and meglumine antimoniate which found that most of the drug is excreted in the urine within 24 h . However, nadir blood Sb concentrations rose 4-fold during treatment, from an average of 0.6% of peak concentrations after the first dose to an average of 25% of peak

concentrations after the 30th dose, indicating that there was gradual accumulation of the drug. (...) The incidence of ECG changes is related to both the duration of therapy and the total daily dose, more than to the magnitude of individual doses, and the ECG abnormalities occur during treatment with sodium stibogluconate are qualitatively identical to those which occur during treatment with trivalent antimonials.

(CHULAY, et al. 1988)

3.2.2 Alternativas ao antimônio

Além dos derivados de antimônio, entre as alternativas terapêuticas descritas para LC encontram-se medicamentos de uso sistêmico e abordagens tópicas. Apesar de gama variada de opções incluindo pentamidina, anfotericina B em suas várias formulações, derivados azóis, miltefosina, paromomicina, pentoxifilina, imiquimod, alopurinol, terapia por radiofrequência ou com óxido nítrico, termoterapia e crioterapia, entre outras, tratam-se de tratamentos com eficácia reconhecidamente baixa ou sustentados por evidência científica frágil. Por sua vez, a prospecção em relação a moléculas e estratégias terapêuticas novas (DE MORAIS-TEIXEIRA *et al.*, 2014) revela um horizonte reduzido de inovações, constituído por medicamentos pouco potentes, tóxicos ou ainda em fase de pesquisa pré-clínica (KHRAIWESH *et al.*, 2016).

O espectro das terapias coberto por esta revisão é o das recomendações terapêuticas para tratamento de LC no Novo Mundo preconizadas pela OMS (2010) e Organização Panamericana da Saúde (OPAS) (2013), além do

Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana elaborado pelo MS e recentemente atualizado (BRASILa, 2017). As alternativas incluídas nestes manuais estão listadas no Quadro 1 e comentadas a seguir, no corpo do texto desta revisão. De modo geral, o número de estudos e a qualidade da evidência para todas as alternativas terapêuticas são limitados, especialmente nas Américas.

Dentre as opções, encontram-se recomendados no Manual brasileiro (BRASILa, 2017), e disponibilizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o AM (para uso parenteral ou por infiltração intralesional), a anfotericina B (formulações desoxicolato e lipossomal), o isotionato de pentamidina, a pentoxifilina e futuramente a miltefosina (BRASILd, 2016). O AM já foi abordado anteriormente e seu uso por infiltração intralesional será tratado em item específico mais adiante; quanto a pentoxifilina, trata-se de um imunomodulador sem ação leishmanicida, cujo uso encontra-se recomendado exclusivamente em associação com AM para o tratamento da LM. Seguimos agora com uma breve descrição das demais alternativas terapêuticas.

A anfotericina B é um antibiótico poliênico com excelente atividade leishmanicida por sua interferência no ergosterol da membrana citoplasmática da *Leishmania*. Além das frequentes reações durante a infusão, tais como dor torácica, dispneia, eritema urticariforme, vômitos, febre, hipotensão, náusea, tremores e cianose, a anfotericina B, especialmente em sua formulação desoxicolato, tem potencial para causar toxicidade renal e cardíaca e intenso distúrbio eletrolítico, especialmente hipocalcemia. Baseadas no encapsulamento da molécula ativa em base lipossômica, na formação de complexos lipídicos ou em dispersões coloidais, as formulações lipídicas da anfotericina B reduzem significativamente a toxicidade renal da droga, sem detrimento de sua eficácia, apresentando, contudo, custo muito elevado. Outra ressalva importante é que, ainda que em menor frequência, também apresentam toxicidade renal, hematológica e cardíaca, são de uso parenteral exclusivo, demandando tratamento em ambiente hospitalar.

Em dois estudos duplos-cegos, a incidência de nefrotoxicidade em pacientes tratados com anfotericina B lipossomal (definida como aumento da creatinina sérica maior do que 2,0 vezes a medida basal) foi aproximadamente a metade da relatada para os tratados com anfotericina B convencional ou com complexos lipídicos de anfotericina B. (BRASILa, 2017)

As anfotericinas constituem-se na única opção para gestantes cujo tratamento não pode ser postergado para depois do parto e, de acordo com as novas recomendações do Manual brasileiro, a anfotericina lipossomal é o medicamento de primeira escolha para pacientes com contraindicação ao AM, especificamente:

(...)idade a partir de 50 anos; com insuficiência renal, cardíaca ou hepática de qualquer idade; transplantados renais, cardíacos ou hepáticos; gestantes de qualquer idade.

BRASILa (2017)

A pentamidina é uma diamidina aromática com ação sobre a membrana mitocondrial da *Leishmania*, através de inibição da topoisomerase II (SINGH *et al.*, 2014). Está associada a sintomas de intolerância, como dor, induração e abscessos estéreis nos sítios de aplicação intramuscular, além de náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias e cefaleia. Reações adversas graves estão descritas, tais como hipotensão (lipotimia, síncope, em especial quando a infusão é feita em período inferior a uma hora), pancreatite, arritmias cardíacas, leucopenia, trombocitopenia, insuficiência renal aguda, hipocalcemia, taquicardia ventricular, choque anafilático e distúrbios glicêmicos:

O diabetes mellitus pode se manifestar a partir da administração da dose total de 2 g. O efeito diabetogênico é dose dependente. Devido ao medicamento ter ação tóxica aguda sobre as células beta-pancreática, pode haver hipoglicemia durante o tratamento e diabetes mellitus tardio BRASILa (2017).

Apresenta, no entanto, baixo custo e disponibilidade, sendo muito eficaz no tratamento da *L. (V.) guyanensis*, espécie para a qual se constitui em medicamento de primeira escolha. Integra ainda o protocolo do MS como medicamento de segunda escolha para a infecção por *L. (V.) braziliensis*.

Quadro 1 – Alternativas para o tratamento da leishmaniose tegumentar no Novo Mundo

Tratamento	Mecanismo de ação	Posologia	Vantagens	Desvantagens
Antimônio pentavalente por via parenteral	Provável ¹ pró droga do Sb ^{III} que age inibindo a trypanothione reductase ou proteínas “dedos de zinco”.	10-20mg/Sb ^V /kg/dia por 20 dias ²	Baixo custo e disponibilidade. ³	Morte súbita, pancreatite, hepatotoxicidade, alargamento do intervalo Qt _c . ²
Antimônio pentavalente Intralesional	Ação local do Sb ^V	Variável ⁴	Formulação tópica ⁴	Uso injetável, associado a dor, edema e infecção bacteriana local ⁴
Anfotericina B desoxicolato	Antibiótico poliênico com excelente atividade por sua interferência no ergosterol da membrana citoplasmática de <i>Leishmania</i> . ²	1mg/kg/dia (máx. 50mg) doses totais: forma cutânea: 1 a 1,5g e forma mucosa: 2,5 a 3g ²	Grande poder leishmanicida. ³	Muito tóxica, reações durante a infusão (dor no peito, dispneia, rash urticariforme, vômitos, hiporexia), toxicidade renal e hipocalcemia. ^{4,5}
Anfotericina B lipossomal	Anfotericina B incorporada dentro de lipossomas feitos com fosfatidilcolina, colesterol e disterolfosfatidilglicerol. ²	1 a 4 mg/kg/dia Sem limite de dose diária, dose total forma cutânea: 1 a 1,5g forma mucosa: 2,5 a 3g. ²	Efeitos da anfotericina convencional muito reduzidos nesta formulação, grande poder leishmanicida. ³	Custo elevado, associada a reações durante a infusão (dor torácica, dispneia, rash urticariforme, vômitos, hiporexia), toxicidade renal e hipocalcemia. ^{4,5}
Pentamidina	Diamidinas aromáticas com ação sobre a membrana mitocondrial através de inibição da topoisomerase II ³	4mg/kg/dia, IM, a cada dois dias não ultrapassar a dose total de 2g. ²	Baixo custo e disponibilidade. ²	Associada sintomas constitucionais, hipotensão, pancreatite e distúrbios glicêmicos ²
Miltefosina	Interage com a membrana celular do parasita induzindo morte celular por apoptose. ^{3,7}	150 mg/d, por via oral, 28 dias. ⁴	Custo baixo pela OPAS; Droga oral, perfil de toxicidade distinto do Sb ^V . ^{2,3,7}	Teratogênico hepatotóxico, elevação de creatinina, diarreia, cinetose, náusea e vômitos. ^{4,5}
Pentoxifilina	Agente modulador de TNF α (fator de necrose tumoral) ⁸	400mg, VO, TID, por 30 dias. ⁸	Eleva a taxa de cura do Sb ^V na LM	n/a ⁸
Pomada de 5% paromomicina e 12% cloreto de metilbenzetonio	Antibiótico aminoglicosídeo (aminosidina). ⁵	Tópico, duas vezes ao dia por 20 dias. ⁹	Formulação tópica ⁹	Não disponível no Brasil.
Termoterapia	Espécies que causam doença cutânea, não multiplicam no interior dos macrófagos acima de 39° C. ¹¹	Uma a duas sessões (50 °C por 30 s). ¹⁰	Tratamento tópico, sem as implicações de medicamentos sistêmicos ¹¹	Exige investimento inicial em equipamento específico. ⁹

Fonte: FRÉZARD *et al.* (2009)¹; BRASILA (2017)²; SINGH *et al.* (2014)³; BLUM *et al.* (2014)⁴; SUNDAR *et al.* (2015)⁵; ARONSON *et al.* (2016)⁶; BRASILD (2016)⁷; BRASILE (2015)⁸; OMS (2010)⁹; HODIAMONT *et al.* (2014)¹⁰; GONÇALVES (2016)¹¹; LOPEZ *et al.* (2016)¹²

A miltefosina é um derivado da hexadecilfosfocolina e interage com a membrana celular da *Leishmania* spp. induzindo a morte celular por apoptose (SINGH *et al.*, 2014). Distingue-se das demais alternativas pela posologia oral (150 mg/dia por 28 dias) – trata-se da única opção disponível para uso não parenteral (BLUM *et al.*, 2014) e por seu perfil de toxicidade distinto do Sb^V, sem restrições em cardiopatas, por exemplo. As reações graves decorrem de hepatotoxicidade e de reações alérgicas (há casos de reação de Stevens Johnson descritos), mas estas ocorrem com rara frequência (OPAS, 2013), o que torna esta medicação uma interessante alternativa às terapias vigentes. A incorporação da miltefosina já foi avaliado e aprovado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias pelo SUS (CONITEC):

Os medicamentos atualmente preconizados pelo Ministério da Saúde para o tratamento da LT são todos de uso sistêmico e apresentam um potencial hepato, cardíaco e nefrotóxico, sendo o antimoniato de meglumina, o tratamento de primeira escolha. A maior parte dos casos de LT ocorre em áreas de difícil acesso, o que dificulta tanto a aplicação parenteral da droga, como o monitoramento de seus efeitos colaterais. A miltefosina é um medicamento de uso oral e eficaz no tratamento da LT, mas ainda não é disponibilizada no SUS. A disponibilização de um medicamento de uso oral e efetivo contra a leishmaniose aumentaria a adesão ao tratamento nas áreas mais pobres e remotas do Brasil (BRASILd 2016).

Quanto a seus efeitos colaterais, são frequentes as queixas de intolerância, como diarreia, cinetose, náusea e vômitos. Trata-se de medicamento com reconhecida ação teratogênica, devendo seu uso nas mulheres em idade fértil, ser seguido pela contracepção por um período de ao menos três meses. Em relação a eficácia, miltefosina tem se revelado medicamento mais eficaz que o AM para o tratamento das espécies *L. (V.) panamensis* e *L. (V.) guyanensis* (OPAS, 2013), mas são poucos os estudos com a droga no Brasil (MACHADO *et al.*; 2010; CHRUSCIAK-TALHARI *et al.*; 2011).

Terapia tópica é hoje considerada como a primeira opção no guia da OMS (OMS, 2010), para tratamento da LC no Velho Mundo. O mesmo documento traz um relato histórico apresentando o risco de acometimento mucoso tardio como a principal justificativa para as terapias locais terem sido consideradas opção menos segura no tratamento da LC no Novo Mundo, premissa agora em questionamento.

A mudança de paradigma decorre principalmente da constatação de que mesmo o tratamento sistêmico não afasta completamente o risco de complicação mucosa, que ocorre em menos de 5% dos casos.

Treatment of cutaneous leishmaniasis with systemic antimonials was widely recommended for decades, but studies published since 1991 have changed the estimated risk–benefit ratio, as no placebo-controlled study has shown the efficacy of systemic antimony in Old World cutaneous leishmaniasis. Systemic antimony should therefore be used only when information on efficacy and safety are available and for severe and complex lesions (OMS, 2010).

Assim, seguindo esta nova lógica, algumas modalidades de terapia tópica começam a figurar como opção no Novo Mundo. As maiores evidências já publicadas referem-se ao uso de termoterapia, com 70% de eficácia avaliada na Colômbia e Guatemala em avaliação três meses após o tratamento e um estudo no Brasil, conduzido por Gonçalves e colaboradores (2016), que descreveram taxa de sucesso de 86,67%. Já a aplicação tópica de paromomicina 15% associada a pomada com 12% de cloreto de metilbenzetônio, duas vezes por dia durante 20 dias, foi avaliada para tratamento da leishmaniose cutânea causada por *L. (L.) mexicana*, *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) panamensis* em estudos conduzidos no Equador e na Guatemala com eficácia de 70-90%. No Brasil, a eficácia foi de 21,4% (3/14) para *L. (V.) braziliensis* em estudo realizado na Bahia (GONZALEZ *et al.*, 2008). Apesar destes avanços, com base na limitada evidência até agora disponível, estas abordagens recebem recomendação classificada como “fraca”, sempre acompanhada pela ressalva da necessidade de mais ensaios randomizados em diferentes áreas e com diferentes espécies para a confirmação de sua eficácia e segurança.

Sobre as recomendações do Manual de Vigilância para LT produzido pelo MS do Brasil, revisão recente em 2017 incorporou as seguintes modificações em relação a versão anterior, de 2007: inclusão da abordagem intralesional para casos selecionados; inclusão de pentamidina como medicamento de escolha para *L.(V.) guyanensis* e como segunda opção para *L.(V.) braziliensis* e demais espécies; inclusão de anfotericina B lipossomal como primeira opção para pacientes com contraindicações ao AM; inclusão de pentoxifilina, medicamento já incorporado ao SUS em 2015 (BRASILE, 2015), como terapia adjuvante ao

AM para tratamento de LM; inclusão de anfotericina B desoxicolato como primeira opção na coinfeção com o HIV, com exceção daqueles que preenchem critérios para o uso da anfotericina B lipossomal: idade a partir de 50 anos; insuficiência renal, cardíaca e hepática; transplantados renais, cardíacos e hepáticos; gestantes.

3.2.3 Uso intralesional do antimônio

O uso intralesional de antimônio é descrito na literatura e utilizado há várias décadas (DUPERRAT *et al.*, 1966; BARRIOS *et al.*, 1986; KELLUM, 1987; MORIZOT *et al.*, 2013). As vantagens potenciais desta abordagem decorreriam da redução dos níveis séricos de antimônio com a aplicação local e em doses menores, o que tenderia a minimizar sua toxicidade. Além disto, a abordagem poderia prescindir de monitoramento laboratorial e eletrocardiográfico frequente e permitir esquemas terapêuticos mais flexíveis, sem a necessidade do uso diário. Tudo isto levando à redução do custo total envolvido no tratamento.

Segundo dados da OMS (2010), o estibogluconato e o AM por via sistêmica tem o custo de 37 e 39,5 dólares americanos (US\$) por tratamento, respectivamente, caracterizando uma terapia de custo acessível. A mesma publicação estima em 12 US\$ um tratamento com Sb^v intralesional realizado com estibogluconato e 13,2 US\$ com AM, o que representa uma economia de quase 70% do custo da terapia parenteral. Para dar perspectiva a este dado: o valor por tratamento estimado pelo MS para incorporação de miltefosina é de R\$1.016,06 e, o de AM por via parenteral, de R\$299,25 (BRASILd, 2016), sendo o impacto orçamentário da incorporação de miltefosina, em um cenário conservador, previsto em R\$22.236.645,50. Desta comparação abstrai-se que a instituição da abordagem baseada na infiltração intralesional de AM representaria uma redução significativa dos gastos, aspecto relevante no cenário de doenças negligenciadas.

A literatura abordando terapia baseada na infiltração intralesional com AM para LC é extensa e revisão descritiva nas bases MEDLINE e LILACS, em setembro de 2016, identificou 79 publicações, nove das quais produzidas nas Américas. Contudo, chama a atenção a grande heterogeneidade entre os estudos, seja pela diversidade de espécies de *Leishmania* envolvidas, seja pela variação nos esquemas terapêuticos empregados e nos critérios para a avaliação da resposta ao tratamento.

A seguir será descrita, em ordem cronológica, uma síntese das experiências nas Américas com a infiltração intralesional de derivados de antimônio para tratamento de LC. Esta experiência, reunida no Quadro 2, constituiu-se no principal referencial teórico para a elaboração do desenho do estudo clínico em que se baseia esta dissertação.

Ressaltamos que em revisão sistemática diversa desta a seguir, mas também realizada pelo nosso grupo, avaliando a eficácia da infiltração intralesional e que está em fase de publicação (Brito e colaboradores, 2017, comunicação pessoal), identificaram-se 40 estudos envolvendo 5679 pacientes, encontrando uma taxa de eficácia em torno de 75%, tanto para o tratamento da LC do Novo quanto do Velho Mundo. Ainda, estudos comparando diretamente a abordagem intralesional com paromomicina tópica, infiltração de solução salina hipertônica, terapia de calor com radiofrequência, ácido tricloroacético tópico e crioterapia não mostraram diferença de eficácia entre estas intervenções.

QUADRO 2 – Relação de publicações descrevendo tratamento intralesional com derivados de antimônio nas Américas, base de dados MEDLINE e LILACS, pesquisa em setembro de 2016

Autor, ano	Local de realização do estudo	Número de pacientes	Espécie de <i>Leishmania</i> identificada ou inferida	Desenho do estudo
GADELHA <i>et al.</i> , 1990	Manaus	64	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Retrospectivo
OLIVEIRA-NETO <i>et al.</i> , 1997b	Rio de Janeiro	74	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo
HOAGLAND <i>et al.</i> , 2006	Rio de Janeiro	10	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo
VAN THIEL <i>et al.</i> , 2011	Belize	17	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo
VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2012	Rio de Janeiro	24	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo
VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2013	Rio de Janeiro	32	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo
SOTO <i>et al.</i> , 2013	Bolívia	80	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Ensaio clínico
SOTO <i>et al.</i> , 2016	Bolívia	90	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Ensaio clínico
SILVA <i>et al.</i> , 2016	Belo Horizonte	31	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Retrospectivo

Gadelha *et al.* (1990): estudo realizado na região norte do Brasil, Manaus, onde predomina a infecção por *L. (V.) guyanensis*. O estudo descreve a evolução de 64 pacientes portadores de LC, dos quais 60 (93,7%) foram curados com três a 10 aplicações semanais de 0,5 a 10 ml de AM, por lesão.

Oliveira Neto *et al.* (1997b): estudo realizado no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz (INI-FIOCRUZ), Rio de Janeiro, com identificação das espécies de *Leishmania* envolvidas, em todos os casos caracterizadas como *L. (V.) braziliensis*. Neste estudo, 59 de 74 (79%) pacientes alcançaram epitelização completa aos 90 dias do início do tratamento com a terapia intralesional com AM, aplicada em frequência quinzenal. No geral, tratavam-se de pacientes com lesões únicas, sendo realizadas no máximo três aplicações. Complicações secundárias às aplicações durante o estudo foram descritas como mínimas: *dor durante e após a aplicação, assim como infrequentes complicações bacterianas*. Talvez o dado mais relevante do estudo seja o longo período de acompanhamento dos pacientes, por até dez anos, sem ocorrência de recidiva mucosa, assunto a ser explorado mais adiante em tópico desta revisão.

Hoagland (2006): série de casos de LC reunidos em uma dissertação, tratam-se de 10 pacientes atendidos no período compreendido entre janeiro de 1998 e dezembro de 2004 no INI-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, todos tratados com AM por via intralesional, tendo-se observado sucesso terapêutico em sete (70%) deles.

Van Thiel *et al.* (2011): estudo conduzido por autores holandeses descrevendo a experiência do tratamento de soldados com LC adquirida em Belize, país da América Central. Predominam as infecções por *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) mexicana*, que responderam por 8 e 4, respectivamente das espécies identificadas. Todos os 17 pacientes (100%) tratados com AM por via intralesional apresentaram cura das lesões.

Vasconcelos *et al.* (2012): análise retrospectiva de pacientes com LC submetidos ao tratamento intralesional com AM no INI-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, onde predominam as infecções por *L. (V.) braziliensis*, com descrição de cura em 20 dos 24 (83%) pacientes. Os pacientes foram acompanhados por em média 14 meses, não sendo relatado nenhum caso de recidiva mucosa. Neste trabalho foram reunidos pacientes submetidos à infiltração intralesional de AM como primeira linha de tratamento.

Vasconcelos *et al.* (2013): dissertação produzida no INI-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, com a análise retrospectiva da experiência do tratamento de resgate usando infiltração intralesional de AM em 32 pacientes já submetidos a tratamento sistêmico com AM e que evoluíram com falha terapêutica ou evento adverso sério com o primeiro tratamento. Houve identificação das espécies em 28 (87.5%) dos 32 dos casos, sendo *L. (V.) braziliensis* identificada em 27 (96.4%) pacientes e *L. (V.) guyanensis*, em um paciente. No geral, observou-se cura com a terapia intralesional com AM em 18 dos 32 pacientes (56%). Dez dos 15 pacientes (66.7%) retratados por falha terapêutica e quatro, dos 12 pacientes (33.3%) foram retratados por recidiva, não obtiveram cura com a abordagem intralesional e precisaram realizar outros tratamentos, seja por via parenteral ou infiltrações adicionais para alcançar a cura definitiva.

Soto *et al.* (2013): ensaio clínico randomizado com 80 pacientes realizado na Bolívia. Caracterização de espécie foi realizada em mais da metade dos casos, com predomínio da infecção por *L. (V.) braziliensis* (86%, 36/42), além de *L. (L.) amazonenses*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (V.) lainsoni*, espécies identificadas em dois pacientes cada. Foram comparados três braços: 30 pacientes submetidos à terapia intralesional com AM (eficácia de 70%), 20 pacientes tratados com placebo (eficácia de 17%) e 30 indivíduos submetidos à crioterapia (eficácia de 20%). Neste estudo eram realizadas apenas três infiltrações de AM nos dias um, três e cinco. Importante ressaltar que o desfecho primário era a redução em 50% da lesão aos 90 dias do início do tratamento, em contraste com a atual proposta de harmonização de intervenções e desfechos em estudos de LC, sugerida por OLLIARO e colaboradores em 2013, que estabelece cura como a total re-epitelização das lesões aos 90 dias do início do tratamento.

Soto *et al.*, (2016): ensaio clínico realizado na Bolívia comparando pentamidina por via intralesional com infiltração intralesional de AM no tratamento de lesões únicas de LC por *L. (V.) braziliensis*. O estudo foi realizado em duas etapas, a primeira com 90 e a segunda com 60 pacientes. Na primeira etapa, 30 pacientes foram tratados com três infiltrações intralesionais de AM (ao longo de cinco dias), com taxa de cura de 57%, enquanto que outros 30 pacientes receberam cinco infiltrações intralesionais de AM ao longo de 11 dias, com 73% de sucesso. Na segunda etapa do estudo, incluiu-se braço de intervenção baseada em cinco infiltrações intralesionais de AM, que obteve 67% de cura. O estudo inova com a proposta de encurtar o tempo de terapia, o que consequentemente reduz custos indiretos relacionados ao deslocamento e absenteísmo dos pacientes em função do tratamento, além de introduzir a pentamidina como uma alternativa intralesional. Os desfechos adotados são os mesmos discutidos previamente, na publicação de 2013 do mesmo autor.

Silva *et al.* (2016): experiência acumulada no Centro de Referência para Leishmaniose do Centro de Pesquisa René Rachou, o CRL-CpqRR, trata-se de análise retrospectiva dos desfechos de 31 de pacientes com contraindicações ao uso parenteral de derivados de antimônio tratados com infiltração intralesional de AM. A idade média dos pacientes era 63 anos e as taxas de cura foram de 70,9% (22/31) na avaliação inicial de três meses e 67,7% (21/31) com seis meses de seguimento, o que pode ser tido como aceitável, considerando-se o perfil dos pacientes e que as perdas de seguimento foram tomadas como não sucesso da terapia.

Trata-se assim de experiência limitada e baseada principalmente em análise retrospectivas de dados. Quanto à validade externa dos estudos descritos, deve-se ressaltar que a maior parte dos dados se refere ao tratamento de pacientes com infecção por *L. (V.) braziliensis*, o que deve ser confrontado com a variedade de espécies de *Leishmania* descritas nas Américas, sendo necessário ainda ponderar sobre a susceptibilidade individual de determinadas cepas (YARDLEY *et al.*, 2006; AZEREDO-COUTINHO *et al.*, 2007). Além disto, os estudos adotam diferentes critérios para a seleção e exclusão de pacientes, assim como critérios de cura, fatores possivelmente relacionados à resposta terapêutica. Este conjunto de observações limita, em alguma medida, a extrapolação dos dados publicados à nossa realidade, o que corrobora a necessidade de estudos sobre a eficácia da terapia baseada na infiltração intralesional de AM no nosso meio. Por outro lado, fica claro que a abordagem intralesional não pode ser considerada uma inovação, já sendo utilizada há décadas, muito embora ainda necessite de maior sistematização.

3.3 Risco da recidiva mucosa

Apesar de alguns padrões de resposta e de vários mediadores da inflamação serem relativamente bem demonstrados na LM, o mecanismo completo envolvido no desenvolvimento da lesão mucosa, mesmo que estudado (OLIVEIRA *et al.*, 2015), ainda é pouco conhecido. A esse respeito, o Manual de 2017 do MS aponta que:

Na LM, este exagero na produção das citocinas do tipo 1 associa-se a uma produção relativamente baixa de IL-10, uma citocina capaz de modular a resposta e inibir a ativação de macrófagos (...). Foi sugerido então que a incapacidade de promover uma modulação adequada da resposta do tipo 1 nos casos de LM possa estar envolvida na patogênese desta grave manifestação clínica (...). Embora a resposta imune que se desenvolve na LM não seja capaz de controlar a doença e muito provavelmente seja responsável pelas manifestações clínicas, ela é capaz de conter a multiplicação parasitária, e os parasitos são escassos nas lesões mucosas. A patogênese da LM continua sendo um mistério, embora alguns estudos tenham associado um risco aumentado a determinadas características genéticas. Quanto mais intensa a resposta de tipo 1, maior a eficiência na eliminação do parasito. Quanto mais presente a resposta de tipo 2, ao contrário, maior será a sobrevivência do protozoário. Esta dinâmica pode explicar porque o isolamento de parasitos é mais difícil em lesões antigas, (...) como nas formas mucosas (BRASILa, 2017).

Recentemente, Ives e colaboradores demonstraram a presença de vírus de RNA, conhecido como *Leishmania* RNA vírus-1 (LRV-1), parasitando *Leishmania* spp. Este vírus estaria relacionado à persistência por longos períodos de tempo do parasito no hospedeiro mamífero infectado (IVES *et al.*, 2011; CANTANHÊDE *et al.*, 2015; ITO *et al.*, 2015; MACEDO *et al.*, 2015). Assim, indivíduos infectados por uma cepa de *Leishmania* spp. portando o LRV-1 teriam maior risco de desenvolver a forma mucosa da doença. Isto decorreria de uma resposta imunológica inflamatória mais duradoura por parte do hospedeiro, responsável pela destruição tecidual extensa encontrada na forma mucosa da doença.

O risco de uma recidiva mucosa tem sido, historicamente, um dos entraves ao desenvolvimento e incorporação da infiltração intralesional de AM, bem como de outras alternativas locais, como opção terapêutica para LC nas Américas.

A preocupação com a recidiva mucosa decorre do reconhecimento da alta prevalência de *L. (V.) braziliensis* como o agente da doença em nosso meio, espécie sabidamente relacionada ao acometimento mucoso, entendido como manifestação da disseminação do parasito.

Decisions about whether and how to treat cutaneous leishmaniasis should first take into account whether the patient is at risk of mucosal leishmaniasis; the desire to prevent mucosal disease is a prime motivator for adequate treatment of new-world cutaneous leishmaniasis (...) Adequate systemic treatment of cutaneous leishmaniasis is assumed (but not proven) to decrease the already low risk (probably <5%) of mucosal disease.

(HERWALDT, 1999)

Partindo do racional de disseminação do parasito, tratamentos sistêmicos seriam teoricamente mais apropriados pela ampla circulação do fármaco e ação leishmanicida em sítios distantes da lesão cutânea, o que poderia reduzir, por conseguinte, a ocorrência de lesões em mucosas.

(..) we have developed further ideas about the genesis of mucosal disease. It seems probable to us that metastasis of amastigote laden macrophages occurs early in the skin granuloma development. We have seen a number of patients where regional lymphadenopathy occurred before skin ulceration and in such lymph glands amastigotes of L(V)b have been recovered. This implies that early effective treatment of skin granuloma due to L(V)b may avoid mucosal disease later (MARSSEN, 1994)

Trata-se, portanto, de indagação antiga, ainda sem resposta:

*A Brazilian ministry of Health recommendation is one ampoule of Glucantime daily for 7-10 days; the course being repeated if necessary. In our recent experience it appears that this will close many skin ulcers due to *L. braziliensis*; but will it prevent mucosal disease?*

(MARSSEN, 1985)

Com base neste racional teórico, ainda não confirmado, terapias sistêmicas em regiões de ocorrência de *L. (V.) braziliensis* vêm sendo preconizadas por importantes guias terapêuticos nas últimas décadas, o que limita ainda mais as possibilidades de abordagem da doença no Novo Mundo (ARONSON et al., 2016; MORIZOT et al., 2013;). Nos últimos anos, entretanto, este conceito vem sendo erodido de maneira paulatina, questionado por se tratar de uma premissa teórica e cercado por dados conflitantes:

Inappropriate systemic treatment of CL was mentioned as a risk factor for ML in several studies. Patients developing ML often have poor access to centers with good diagnostic and treatment facilities. However, the assumption that systemic treatment of CL with appropriate dose and duration of treatment can prevent ML has not been proven. The development of ML has also been reported in adequately treated patients. Thus even an appropriate treatment cannot fully prevent ML (BLUM et al., 2012).

Algumas evidências podem ser citadas na avaliação da associação entre a via de administração do tratamento para LC e o risco de complicação mucosa tardia. Em estudo com acompanhamento de quatro anos após o tratamento de LC causada por *L. (V.) braziliensis*, dois de 62 pacientes (3.2%) apresentaram recidiva mucosa a despeito de utilizarem o tratamento sistêmico em dose plena (NETO et al., 1990). Por outro lado, quatro estudos brasileiros, todos realizados no INI-FIOCRUZ, descrevem a evolução de pacientes submetidos a terapias tidas como *sub-ótimas*, seja a infiltração intralesional de AM ou doses reduzidas de derivados AM por via parenteral. Estas observações representam a outra face da moeda, ou seja, devem ser analisadas de forma complementar às avaliações de longo prazo após terapias sistêmicas, tidas como *ótimas*, a fim de se repensar a premissa histórica de que o tratamento sistêmico em dose plena é necessário para impedir a recidiva mucosa. São eles:

Oliveira-Neto *et al.* (1997a): avaliação ao longo de 10 anos de 159 pacientes tratados com administração de AM por infiltração intralesional ou via parenteral em “*dose baixa*” (5mg/kg/dia por 30 dias ou infiltração intralesional), não sendo observados casos de LM.

Oliveira-Neto *et al.* (1997b): estudo descrevendo evolução de 56 pacientes submetidos ao tratamento com infiltração intralesional de AM, não sendo identificados casos de LM em um seguimento longo (em 43 pacientes, o período de observação foi superior a cinco anos).

De Oliveira-Neto *et al.* (2000): em observação ao longo de 11 anos em serviço de referência (INI-FIOCRUZ), apenas três pacientes, dentre 658 tratados, desenvolveram LM. Embora neste estudo tenham sido reunidos pacientes submetidos a vários esquemas terapêuticos, deve-se ressaltar que a terapia rotineira neste serviço era baseada na administração por via parenteral de AM na dose de 5mg/kg/dia por 30 dias.

Gonçalves (2014): descrição retrospectiva de pacientes com LC tratados por Oliveira-Neto, sendo que de um total de 582 pacientes, 203 receberam tratamento por infiltração intralesional de AM, 105 receberam a dose plena de AM por via parenteral preconizada pelo MS (15-20mg/Kg/dia) e os demais receberam terapia parenteral com AM em dose reduzida (5mg/Kg/dia). O estudo se propôs a levantar ativamente a condição dos pacientes anos e, em alguns casos, décadas após o tratamento, com vistas a identificação da ocorrência de complicação mucosa. Dos 100 pacientes que puderam ser localizados após o tratamento, nenhum havia apresentado recidiva mucosa. Dado curioso, relativo à pesquisa do DNA de *Leishmania* spp. nas cicatrizes das lesões por técnica molecular (PCR) realizada neste estudo, foi a identificação de cinco casos positivos entre 23 amostras do grupo de pacientes tratados com dose plena de AM e nenhum caso positivo entre as 31 amostras dos pacientes que haviam recebido AM por infiltração intralesional ou em “dose baixa” por via parenteral.

Estas observações sugerem um benefício da terapia na redução da ocorrência de LM, embora não nos permitam concluir que seja a terapia, necessariamente sistêmica, o fator determinante desta prevenção, tampouco indicam sua superioridade em relação ao tratamento intralesional ou usando derivados de antimônio em “baixa dose”. Deve-se, contudo, ponderar que muitas destas observações resultam da experiência construída em região específica e, em grande parte, por um mesmo grupo de observadores. Porém, utilizando o juízo de revisão recente sobre o assunto (BLUM *et al.*, 2012), estas são as poucas informações disponíveis sobre a questão.

Por fim, em relação à eficácia e segurança da infiltração intralesional de AM, é razoável argumentar que estes, assim como a recidiva mucosa, também poderiam se constituir como empecilhos à implantação da terapia intralesional, dado que os dados a esse respeito tem algumas limitações. No entanto, tratam-se de desfechos passíveis de avaliação em prazo relativamente curto e se constituem no objetivo principal de estudo nesta dissertação.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Estudo clínico, fase II, aberto, não controlado, de avaliação da eficácia e segurança da infiltração intralesional de AM para o tratamento da LC localizada.

4.2 Aspectos éticos e registro do estudo

O estudo (CAAE 44674314.3.3001.5091) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa René Rachou (Parecer número 1.136.132) e registrado na base de Registros Brasileiros de Ensaio Clínicos (REBEC), em 5 de julho de 2015 sob o número RBR-44KG5X e *Universal Trial Number* (UTN) U1111-1171-8847.

4.3 Local de realização do estudo

Ambulatório do Centro de Referência em Leishmanioses (CRL) do Centro de Pesquisa René Rachou, unidade da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em Minas Gerais, que tem como missão desenvolver processos e produtos visando apoiar ações de controle das leishmanioses nas três esferas de governo, por meio de atendimento ambulatorial, capacitação, pesquisa e assessoramento. O CRL é uma unidade integrada ao SUS, credenciado pelo MS como referência técnica em leishmaniose, constituído por uma unidade assistencial ambulatorial, com capacidade para cerca de 900 atendimentos e média de 90 casos de leishmaniose diagnosticados anualmente, além de laboratório que realiza em torno de 300 exames/ano, incluindo pesquisa direta, cultivo e PCR para diagnóstico de infecção por *Leishmania* spp.

4.4 Recrutamento, critérios de inclusão e exclusão

Todos os pacientes consecutivamente atendidos em primeira consulta com suspeita de LC no CRL-CpqRR a partir de 1 de agosto de 2015 foram

recrutados e avaliados quanto aos critérios de inclusão e exclusão, abaixo detalhados.

4.4.1 Critérios de Inclusão

- Idade maior que 12 anos
- Concordância para participar de forma voluntária e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1);
- Presença de no máximo de três lesões cutâneas compatíveis com LC, desde que com área total não superior a 900mm², não localizadas em orelha, região articular ou contiguidade a mucosas;
- Confirmação parasitológica da infecção por *Leishmania* spp. por exame direto pela técnica *imprint*, cultura, exame anatomopatológico ou PCR

4.4.2 Critérios de exclusão

- Tratamento prévio com drogas leishmanicidas nos seis meses anteriores ao recrutamento;
- História de alergia a AM;
- Gravidez ou lactação;
- Comprometimento mucoso;
- Presença de condição clínica significativa que a critério do investigador contraindicasse o uso do AM, dentre elas disfunção cardíaca, hepática ou renal.

4.5 Intervenção (tratamento em estudo)

Infiltração intralesional de AM (Glucantime®), por técnica padronizada (ANEXO 2), até a cura ou o máximo de 8 aplicações, com intervalo semanal.

4.6 Definições adotadas

Em consonância com as recomendações atuais de padronização de metodologia aplicada a ensaios clínicos em LC (OLLIARO *et al.*, 2013), o critério de cura e os momentos de avaliação foram assim definidos:

4.6.1 Resposta inicial: avaliada entre o 42º e o 49º dia do início do tratamento (momento denominado D45), definida por redução igual ou superior a 50% da área inicial da lesão, que por sua vez é calculada pela multiplicação do maior diâmetro da lesão pelo segundo maior diâmetro, perpendicular ao primeiro.

4.6.2 Cura inicial: avaliada com 90 ± 14 dias do início do tratamento (momento denominado D90), definida por completa epitelização de todas as úlceras, involução completa de nódulo ou placa e ausência de qualquer sinal de atividade inflamatória.

4.6.3 Cura definitiva: avaliada com 180 ± 14 dias do início do tratamento (momento denominado D180), definida por completa epitelização de todas as úlceras, involução completa de nódulo ou placas e ausência de qualquer sinal de atividade inflamatória.

4.6.4 Falha terapêutica: definida como não redução no D45 do mínimo de 50% da área da lesão medida imediatamente antes do início do tratamento, qualquer situação diferente de cura em D90 ou no D180 ou o aparecimento de qualquer nova lesão após início do tratamento.

4.7 Critério para suspensão do tratamento

4.7.1 Critérios para suspensão temporária

A infiltração intralesional de AM não era realizada diante de uma lesão não curada nas seguintes situações:

- Diagnóstico de infecção bacteriana (secreção, dor, hiperemia ou edema) na região da lesão a ser infiltrada;
- Não comparecimento do paciente à consulta médica programada.

4.7.2 Critérios para suspensão definitiva do tratamento

O tratamento com infiltração intralesional de AM era definitivamente suspenso nas seguintes situações:

- Ocorrência de evento adverso grave ou de intensidade 4, com relação de causalidade com o tratamento considerada provável ou confirmada;
- Mais de 21 dias transcorridos a partir da última infiltração (situação que caracterizava falha de aderência ao protocolo);
- Cura da lesão;
- Realização do total de 8 infiltrações;
- Retirada do consentimento pelo paciente

No caso da suspensão definitiva do tratamento experimental por situação diferente de cura, realizava-se a avaliação da atividade da lesão e o julgamento sobre a indicação de terapia de resgate (item 4.12) ou conduta expectante, esta última em caso de lesão considerada em franca evolução para a cura.

4.8 Desfechos de interesse

Para todos os desfechos foram calculadas as taxas por intenção de tratamento, ou seja, sendo considerado como denominador o número total de pacientes submetidos a terapia intralesional com AM.

4.8.1 Desfechos primários

4.8.1 A Cura inicial: definida pelo número absoluto e percentual de pacientes curados, aos 90 dias do início do tratamento, em relação ao número de pacientes tratados.

4.8.1 B Cura definitiva: definida pelo número absoluto e percentual de pacientes curados, aos 180 dias do início do tratamento, em relação ao número de pacientes tratados.

4.8.2 Desfechos secundários

4.8.2 A Eventos adversos: definida pelo número absoluto e relativo de pacientes com notificação de eventos adversos, durante e após o tratamento experimental, em relação ao número de pacientes submetidos ao tratamento.

4.8.2 B Falha terapêutica: definida pelo número absoluto e percentual de pacientes que experimentaram falha terapêutica (definida no item 4.5), aos 45, 90 e 180 dias do início do tratamento, em relação ao número de pacientes submetidos ao tratamento.

4.9 Cálculo da amostra

Calculou-se a amostra necessária para a comparação de proporções em uma amostra única, tendo como desfecho primário cura. O valor postulado para cura foi estabelecido de acordo com dados da literatura para o tratamento padrão-ouro para LC (AM por via parenteral) e o valor hipotetizado a ser observado foi definido aplicando a margem de equivalência de 25%, análise uni caudal. A definição da margem de equivalência em 25% levou em conta valores habitualmente aceitos para conservação do efeito do tratamento padrão, entre 50 e 75% (D'AGOSTINO; MASSARO; SULLIVAN, 2003), aceitando-se taxa de cura mais baixa em prol da esperada redução da toxicidade relacionada ao

tratamento experimental proposto (SCHUMI *et al.*, 2011). Assim, por comparação indireta, partiu-se da hipótese de não inferioridade do tratamento proposto (infiltração intralesional de AM) em relação ao tratamento padrão com AM por via parenteral, ou seja, hipótese nula definida por: (cura com AM por via parenteral) – (cura com infiltração intralesional de AM) \leq margem de equivalência. Considerando a taxa de cura estimada com AM por via parenteral como 71%, baseado em metanálise de 2008 (TUON *et al.*, 2008), para a margem de equivalência de 25% em relação à eficácia de 71%, calculou-se como não inferior, taxa de cura acima de 53% (variando de 53% a 89%). O cálculo foi realizado pelo programa STATA versão 11.0 definindo-se poder de 80% e erro alfa de 0,05, sendo o tamanho da amostra calculado em 45 pacientes. Outra abordagem foi calcular a amostra necessária para se estimar com precisão de 10% e intervalo de confiança de 95% a proporção de cura esperada. Da mesma forma que no raciocínio anterior, baseou-se na taxa de cura de 71% para o tratamento com AM por via parenteral (TUON *et al.*, 2008), e considerou-se aceitável uma margem inferior de até 25% a partir deste valor (ou seja, 54% de cura com a terapia IL). Utilizando a fórmula abaixo, a amostra necessária foi calculada em 50 pacientes. As duas estratégias de cálculo foram realizadas no programa STATA versão 11.0, definindo-se poder de 80% e erro alfa de 0,05. Assim, atendendo às duas possibilidades de análise, definiu-se a amostra mínima necessária neste estudo em 50 pacientes.

$$N = \frac{Z^2 \times p \times (1-p)}{\varepsilon^2}$$

4.10 Técnica de infiltração intralesional de AM

A infiltração intralesional de AM era realizada pelos profissionais médicos da equipe do CRL, seguindo o Procedimento Operacional Padrão (POP) que foi elaborado e validado anteriormente pelo grupo de Pesquisa Clínica e Políticas Públicas em Doenças Infecciosas e Parasitárias do CpqRR (da SILVA *et al.*, 2017, em fase de publicação). A intervenção terapêutica experimental consistia na infiltração intralesional de AM com frequência semanal até cicatrização completa da lesão ou o máximo de oito infiltrações. Todas as infiltrações foram

realizadas com o lote de número 528240 do medicamento Glucantime[®], produzido pela Sanofi-Aventis e cedido pelo MS do Brasil. A medicação é apresentada em ampolas de 5 ml com concentração de 81 mg de Sb^v por mililitro (ml).

Antes da infiltração, as lesões eram limpas com solução salina estéril a 0,9% e clorexidina, as crostas eram removidas e, em seguida, as lesões eram secas com gaze. Primeiramente realizava-se a anestesia local através de infiltração de lidocaína a 2% em pontos estratégicos definidos conforme instruções contidas no POP, localizados em pele íntegra, adjacentes à lesão. Em seguida, o volume total da ampola de Glucantime[®] era aspirado (5 ml) com seringa de 5ml e a infiltração era realizada com agulha 25 x 0.8 mm, de 1 em 1 ml, a partir de botão anestésico, em direção ao centro, com 1 a 2mm de profundidade, bisel da agulha voltado para cima e inclinação da agulha a mais paralela possível ao plano da superfície da lesão.

A infiltração era repetida tantas vezes quantas necessárias, em movimento radial, a fim de se alcançar a condição de “saturação da lesão” (de acordo com definição contida no POP) ou atingir o volume máximo correspondente a 20 mg/kg de AM ou 15 ml (o que ocorresse primeiro). O conceito de saturação da lesão foi definido como o seu total intumescimento com a infiltração ou por palidez, incluindo bordas e centro, sendo o intumescimento caracterizado pelo aumento de volume ou edema. Alternativamente, a saturação foi definida por extravasamento da medicação em duas tentativas de infiltração, mesmo que intumescimento e palidez não tenham sido alcançados. O volume total aplicado era registrado ao final do procedimento.

4.11 Condução do estudo

Pacientes com suspeita de LC que atendiam aos critérios de inclusão, afastadas as condições de exclusão, eram abordados e admitidos no estudo após a assinatura do TCLE. Imediatamente antes da primeira infiltração, realizava-se o registro fotográfico das lesões e coleta de sangue para exames hematológicos e bioquímicos, além de eletrocardiograma (ECG). Preenchia-se

ficha clínica padrão, contendo informações da anamnese e do exame físico geral e da (s) lesão (ões) (morfologia, localização, número, diâmetros e área total) (ANEXO 3). O primeiro dia de tratamento foi considerado o D1 de cada paciente no estudo.

O monitoramento clínico e laboratorial era realizado semanalmente durante o tratamento (período compreendido entre a primeira e última infiltração intralesional de AM realizada) e, depois, nas avaliações no D90 e D180, conforme detalhado no Quadro 3. Em todas as avaliações aplicava-se questionário com dados de anamnese, exame físico, incluindo informações relativas à ocorrência de eventos adversos, além de sinais vitais, peso e de mensuração e documentação fotográfica das lesões (ANEXOS 4 a 6). A avaliação laboratorial incluía os seguintes exames: ECG, hemograma, amilase, lipase, transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), bilirrubinas, ureia e creatinina.

QUADRO 3 – Cronograma de condução do estudo: intervenção terapêutica, monitoramento clínico-laboratorial e avaliação de desfechos

Momento avaliação	Recrutamento	Início do tratamento	Período de tratamento: infiltrações a cada 7 dias	Avaliação de resposta inicial D45 ± 7 dias	Avaliação de cura inicial D90 ± 15 dias	Avaliação de cura definitiva D180 ± 15 dias
Procedimento	<i>Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, abordagem, assinatura do TCLE</i>	<i>- Anamnese - Exame físico - Registro fotográfico das lesões - ECG - Coleta de sangue para RL - Avaliação de EA</i>	<i>- Anamnese - Exame físico - Registro fotográfico das lesões - ECG - Coleta de sangue para RL - Avaliação de EA</i>	<i>- Anamnese - Exame físico - Registro fotográfico das lesões - ECG - Coleta de sangue para RL - Avaliação de EA</i>	<i>Avaliação clínica de cura</i>	<i>Avaliação clínica de cura</i>

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ECG: eletrocardiograma RL: revisão laboratorial constituída por hemograma, ureia, creatinina, bilirrubinas, amilase, lipase, transaminase pirúvica, transaminase oxalacética EA: eventos adversos

4.12 Definições e graduação adotadas para classificação de eventos adversos

4.12.1 Definição de evento adverso

A definição de evento adverso da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) foi adotada (ANVISA, 2016), sendo considerado como evento adverso qualquer ocorrência médica indesejável que ocorra com um paciente que tenha recebido um produto farmacêutico e que não necessariamente tenha relação causal estabelecida com este tratamento.

4.12.2 Definição de evento adverso grave

A definição de evento adverso grave, de acordo com a referência adotada e citada acima, inclui qualquer sintoma que causa incapacidade para realizar as atividades de autocuidado básico ou implicam na necessidade de intervenção médica ou invasiva para prevenir danos permanentes, incapacidade persistente ou morte. São entendidas como atividades de auto-cuidado atividades tais como tomar banho, vestir-se, limpeza, deslocar-se, continência e alimentação.

4.12.3 Avaliação dos eventos adversos

A notificação de eventos adversos era realizada a partir de busca ativa, a partir do primeiro dia de tratamento (D1), por meio de questionamento direto ao paciente sobre a ocorrência de sinais e sintomas novos (ANEXOS 4 a 6) e, a qualquer momento, em caso de comunicação feita pelo paciente. A vigilância dos eventos adversos relacionados ao tratamento incluía também a análise dos exames complementares realizados periodicamente, sempre antes da infiltração, e detalhados no item 4.11. Todos os eventos adversos identificados eram classificados em graves e não graves, além de graduados em intensidade (de um a quatro) tendo como referência as tabelas dos estudos ACTG - *“Division of AIDS (DAIDS) - Table for Grading the Severity of Adult and Pediatric Adverse Events Version 2.0 November 2014”*.

O racional para a gradação da intensidade dos eventos clínicos seguiu os critérios gerais apresentados no QUADRO 4 e as tabelas originais do ACTG, de acordo com o sistema acometido (ANEXO 7). Se a gravidade de um evento podia ser classificada em dois graus diferentes, foi sempre selecionado o maior nível de gravidade possível. De acordo com esta padronização, eventos adversos classificados como de intensidade 4, devem sempre ser classificados como eventos graves.

Os critérios laboratoriais para os parâmetros hematológicos, bioquímicos e eletrocardiográficos monitorados neste estão transcritos no QUADRO 5. A análise de causalidade seguiu critérios propostos pela OMS (2017), também adotados pela ANVISA (ANEXO 8 e 9).

QUADRO 4 – Critérios para avaliação da intensidade dos eventos adversos clínicos

CLÍNICOS				
PARÂMETROS	GRAU 1 LEVE	GRAU 2 MODERADO	GRAU 3 GRAVE	GRAU 4 POTENCIALMENTE LETAL
Estimação do nível de gravidade				
Evento adverso clínico que não esteja listado em nenhuma das tabelas abaixo	Sintomas que não causam, ou causam interferência mínima nas atividades sociais usuais ou atividades funcionais	Sintomas que causam mais do que interferência mínima nas atividades sociais usuais ou atividades funcionais	Sintomas que causam incapacidade para desenvolver as atividades sociais usuais ou atividades funcionais	Sintomas que causam incapacidade para realizar as atividades de autocuidado básico ou implicam na necessidade de intervenção médica ou invasiva para prevenir danos permanentes, incapacidade persistente ou morte

QUADRO 5 – Critérios para avaliação da intensidade dos eventos adversos laboratoriais

	Normal	Intensidade 1	Intensidade 2	Intensidade 3	Intensidade 4
Hemoglobina g%	>10	10 - 10,9	9 - 9,9	8,9 - 7	<7
Leucócitos N°/mm³	>2000	2000 - 2,500	1,500- 1,990	1499 - 1000	<1000
Plaquetas N°/mm³	≥125000	124k - 100k	99k - 50k	49k - 25k	<25000
Creatinina Mg%	<1,32	1,31 - 1,56	1,57 - 2,16	2,17 - 4,0	>4,1
Ureia Mg%					
Bilirrubinas Totais mg%	<1,32	1,33 - 1,8	1,9 - 3	3,1 - 6	>6
TGO UI/ml	<43	44 - 88	89 - 175	176 - 350	>351
TGP UI/l	<43	44 - 88	89 - 175	176 - 350	>351
FA UI/ml	<144	145 - 300	301 - 600	601 - 1,200	>1201
Amilase mg/ml	<88	89 - 120	121 - 160	161 - 400	>401
QTc ms	<0,45	0,45 - 0,47 ou +0,03	0,48 - 0,49 ou +0,03 a 0,05	≥0,5 ou +0,06	
PRi	<0,21	0,21 - 0,25	> 0,25		
FC bpm	<100	101 - 119	120 - 140	140 - 160	>160

TGO: transaminase oxalacética TGP: transaminase pirúvica QTc: intervalo QT corrigido Pri: intervalo PR
FC: frequência cardíaca

4.12.4 Avaliação da relação de causalidade entre a intervenção e o evento adverso

Compreende a avaliação da probabilidade de que um evento adverso seja consequência do uso do medicamento, quando se refere a um caso individual. As categorias de causalidade definidas pela OMS (2017) são apresentadas a seguir e no ANEXO 8:

Definida

Trata-se de evento clínico, incluindo-se anormalidades em testes de laboratório, que ocorre em espaço de tempo plausível em relação à administração do medicamento e que não pode ser explicado por doença de base ou por outros medicamentos ou substâncias químicas. A resposta à suspensão do uso do medicamento deve ser clinicamente plausível. O evento deve estar definido farmacológica ou fenomenologicamente, usando-se um procedimento de reintrodução satisfatória, se possível.

Provável

Trata-se de evento clínico, incluindo-se anormalidades em testes de laboratório, que se apresenta em período de tempo razoável de administração do medicamento, improvável de ser atribuído a uma doença concomitante ou outros medicamentos ou substâncias químicas, e que apresenta uma resposta clinicamente razoável a suspensão do uso do medicamento. Informações sobre a reintrodução não são necessárias para completar esta definição.

Possível

Trata-se de evento clínico, incluindo-se anormalidades em testes de laboratório, que se apresenta em período de tempo razoável de administração do medicamento, mas que também pode ser explicado por doença concomitante ou outros medicamentos ou substâncias químicas. Informações sobre a suspensão do uso do medicamento podem estar ausentes ou obscuras.

Improvável

Trata-se de evento clínico, incluindo-se anormalidades em testes de laboratório, em que a associação temporal com a administração do medicamento torna uma relação causal improvável e em que outros medicamentos, substâncias químicas ou doenças subjacentes propiciam explicações plausíveis.

4.13 Terapia de resgate

Pacientes com suspensão definitiva do tratamento intralesional por critério diferente de cura (item 4.8) eram avaliados individualmente em relação à necessidade de receber terapia de resgate. Pacientes com lesões em franca cicatrização podiam ser apenas observados sem a instituição de outro tratamento. Também com base no julgamento clínico individualizado se dava a escolha da medicação a ser instituída no tratamento de resgate, o que incluía AM por via parenteral, anfotericina B lipossomal ou mesmo infiltrações adicionais de AM. Tal decisão dependia da extensão e grau de cicatrização das lesões, da idade do paciente e da presença ou não de comorbidades. Todos os casos com suspensão definitiva precoce do tratamento experimental, ou seja, antes da cura ou de completar oito infiltrações, eram classificados como falha terapêutica, exceto se a suspensão se dava por retirada do consentimento pelo paciente, neste caso, o paciente era retirado do estudo.

4.14 Critério para interrupção do estudo (análise de segurança)

Definiu-se a taxa de eficácia igual ou inferior a 50% avaliada no D90 como critério pré-estabelecido para a interrupção do estudo. A amostra mínima necessária para a realização desta observação foi calculada em 33 pacientes, utilizando um poder de 80% e um nível de significância de 0,05. Esta seria a amostra mínima necessária para o reconhecimento de uma eficácia inaceitavelmente baixa para a intervenção experimental (infiltração intralesional de AM), considerando como referência a eficácia de 71% com AM, por via parenteral, descrita com o tratamento de LC por *L. (V.) Braziliensis* (TUON *et al.*, 2008).

4.15 Métodos diagnósticos utilizados

Para o diagnóstico parasitológico de *Leishmania* spp. foram realizadas biópsias da lesão para coleta de fragmento de tecido e exame microscópico de *imprint* e PCR em fragmento de tecido, assim como aspirado de borda da lesão, para a realização de cultivo de parasitos em meio axênico. Parte do tecido biopsiado era acondicionado em solução formol a 10% para a realização de exame anatomopatológico. De acordo com rotina assistencial do CRL-CpqRR, fragmentos de tecido colhidos pela biópsia só eram encaminhados para a realização de pesquisa do parasito pela técnica de PCR e exame histológico após resultados dos exames parasitológico direto e cultura (a partir da 2ª leitura com 14 dias de incubação) negativos. Todos os exames, com exceção do estudo anatomopatológico, foram executados no Ambulatório e Laboratório do CRL-CpqRR, de acordo com protocolos previamente estabelecidos no Serviço.

4.16.1 Procedimentos para obtenção das amostras

4.16.1 A Biópsia da lesão

A biópsia da pele acometida por LC era realizada após a realização de antissepsia da área com solução de clorexidina 4% e infiltração local do anestésico lidocaína a 2%, com ou sem vasoconstritor. Na sequência, a biópsia era realizada por meio de “punch” de calibre três, instrumento próprio para esta finalidade e adequado ao uso em rotação, retirando da pele dois fragmentos cilíndricos, obtidos da borda da lesão. Cada um dos dois fragmentos era então seccionado em duas metades e preparados para o *imprint*, após a absorção do sangue presente no tecido, por papel filtro. Após a realização do *imprint*, os agora quatro fragmentos, eram reservados para realização de cultura para fungos, PCR para *Leishmania* spp. e exame anatomopatológico.

4.16.1 B Aspirado da borda da lesão

O aspirado de borda de lesão consistia em aspiração da lesão com agulha acoplada a tubo de ensaio contendo dois mililitros de meio NNN + 200 µL de solução salina com antibiótico. O procedimento era realizado com a introdução da agulha em pele íntegra em direção à borda da lesão, seguido da conexão do tubo à vácuo, no porta agulha. Na sequência, procedia-se o retrocesso deste conjunto, de forma a aspirar o trajeto percorrido pela agulha. Repetido o procedimento mais duas vezes, eram coletados três aspirados, em três tubos de ensaio.

4.16.2 Métodos laboratoriais para o diagnóstico de LC

4.16.2 A *Imprint*

O *imprint*, que consiste na impressão do fragmento biopsiado em lâmina de vidro, era sempre realizado pelo médico imediatamente após a biópsia, sendo o material fixado com metanol e corado com Giemsa. A leitura das lâminas se dava por exame em microscópio ótico, utilizando a objetiva de imersão com aumento de 100 vezes. A confirmação da presença do parasito dependia da identificação de amastigotas, estruturas ovaladas caracterizadas pela presença de núcleo e cinetoplasto.

4.16.2 B Cultivo para *Leishmania*

Realizado a partir do conteúdo aspirado das bordas das lesões diretamente no tubo com meio de cultivo Neal, Novy e Nicolle (NNN), enriquecido com antibiótico para inibir a contaminação bacteriana. Os tubos de cultivo eram incubados por 21 dias em estufa, a 26°C, sendo a leitura da presença de crescimento de *Leishmania* spp. feita semanalmente.

4.16.2 C Exame anatomopatológico ou histológico

O exame era o único, entre os realizados para o diagnóstico de LC no CRL-CpqRR, executado externamente ao CRL, no Laboratório Tafuri de Patologia, em Belo Horizonte. Seu resultado era considerado diagnóstico de leishmaniose apenas quando estruturas amastigotas eram visualizadas na amostra. Além desta possibilidade, o exame podia revelar um quadro histopatológico apenas compatível com leishmaniose, se os achados abaixo descritos estivessem presentes, situação que era considerada suficiente para a confirmação de LC, para fim de inclusão do paciente neste estudo. Além das duas situações descritas anteriormente, o exame histológico podia ainda revelar um infiltrado inflamatório inespecífico ou preencher critérios para a confirmação de outras doenças. A seguir, descrição do infiltrado inflamatório típico de LC, segundo o Manual do MS:

4.16.2 D Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A técnica de PCR empregada utilizou como alvo molecular a sequência gênica de DNA do cinetoplasto do parasito, considerada como a mais sensível para a detecção de *Leishmania spp.* (BENSOUASSAN *et al.*, 2004; SATOW *et al.*, 2013). O protocolo de realização de PCR do laboratório do CRL-CpqRR consiste na extração do DNA dos fragmentos de lesão por meio do kit QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), seguindo protocolo do fabricante. A reação de PCR preparada para um volume final de 20µL, contendo 2µL de amostra de DNA (diluição 1/5), cinco unidades de Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen, São Paulo, Brasil), 1X PCR Buffer (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCL - Invitrogen), iniciador senso: 150 (5'-GGGG/TAGGGGCGTTCTC/GCGAA-3') marcado com biotina na extremidade 5' e anti-senso: 152 (3'C/GC/GC/GA/TCTATA/TTTACACCAACCCC-5') (Degrave *et al.*, 1994) a 0,6 µM cada, 2,0 mM MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP (Promega, WI, EUA).

O programa de ciclagem consiste de uma etapa a 95° C por cinco min, seguida de 34 ciclos a 95° C por 30 segundos, 60 °C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos. Uma etapa final de 72°C por cinco minutos é realizada e a reação mantida a 4°C ou retirada da máquina imediatamente com conservação a – 20°C. Cada ensaio inclui dois controles da PCR (mix da PCR sem o DNA) e demais controles negativos de pacientes saudáveis. Como controle do procedimento de extração de DNA e de amplificação, todas as amostras eram amplificadas para o gene humano codificador da β -actina utilizando iniciadores Aco1 (5'-ACCTCATGAAGATCCTCACC-3') marcado com biotina-5' e Aco2 (5'-CCATCTCTTGCTCGAAGTCC-3'), que geram um produto de 120 pares de base, visualizado em gel de poliacrilamida 6%.

4.18 Análise dos dados

Dados clínicos e laboratoriais foram digitados em banco de dados informatizado e analisados com o uso do programa estatístico SPSS® 11.0. A análise descritiva dos dados foi realizada pelas frequências simples das variáveis categóricas, além de médias e medianas, e seus respectivos desvio padrão e intervalo interquartil 25-75% (IQ 25-75%) para as variáveis contínuas, dependendo de sua distribuição. A comparação das médias foi realizada utilizando-se do teste “t” de *Student* e das medianas, o teste de *Kruskal-Wallis*. Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste do Qui-quadrado. Para a análise dos fatores relacionados à cura, modelos simples de regressão logística binária foram empregados. Posteriormente, foi construído um modelo de regressão múltipla, incluindo todas as variáveis identificadas na análise univariada como relacionadas a este desfecho com um valor de p inferior a 0.2. O teste de razão de verossimilhança foi utilizado para a escolha do modelo final. A medida de *odds ratio* (OR) e seus respectivos intervalos de confiança foram utilizados como medida de associação dos modelos de regressão. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier foi usada para a descrever a taxa de cura ao longo do tempo. Para todos os testes, aceitou-se o nível de significância foi de 5%.

5 RESULTADOS

Serão objeto desta análise todos os 38 pacientes incluídos no estudo que tiveram a avaliação de cura aos 90 dias do início do tratamento realizada até 30 de novembro de 2016, data limite para esta análise parcial.

Alcançados 33 pacientes submetidos a avaliação do D90, análise intermediária de segurança planejada foi realizada e confirmou que a eficácia da intervenção baseada na infiltração intralesional de AM era superior a 50%, limite pré-estabelecido para a interrupção do estudo, sendo a inclusão de pacientes e a condução do estudo mantidos.

Embora o cálculo inicial tivesse estimado em 50 pacientes a amostra necessária para a identificação da eficácia da intervenção proposta não inferior a 71%, com margem de 25%, análise parcial dos resultados de 38 pacientes tratados com a infiltração intralesional de AM confirmou a existência de poder estatístico desta amostra reduzida para a realização da comparação pretendida. Por este motivo, os resultados que serão apresentados se referem a 38 pacientes.

5.1 Características da população estudada

A população estudada é composta por 38 indivíduos, 22 homens (58%) e 16 mulheres (42%), de um universo de 85 pacientes com diagnóstico de LC no CRL-CpqRR entre 1 de agosto de 2015 e 30 de setembro de 2016. Os motivos da não inclusão no estudo estão apresentados na TABELA 2.

Os pacientes incluídos são procedentes do interior do estado de Minas Gerais (19/38, 50%) e da região metropolitana de Belo Horizonte (18/38, 47%), além de um único paciente (2,6%) procedente do Mato Grosso, na região Centro-Oeste do Brasil. Mais da metade deles (22/38, 58%) tinha nível de instrução até o ensino fundamental, mesmo que incompleto.

Quatro pacientes (11%) não eram alfabetizados, apenas dez pacientes (26%) tinham o terceiro nível de instrução. A idade variou de 14 a 75 anos, com mediana de 42,5 anos. Nenhum dos pacientes relatou diagnóstico de imunodeficiência, seja pelo uso de corticoide, outra terapia imunossupressora ou infecção pelo HIV.

TABELA 2 – Características dos pacientes com diagnóstico de LC não incluídos no estudo RBR-44KG5X, CRL-CpqRR

Justificativa	Número de pacientes	%
Presença de acometimento mucoso	17	36,17
Lesão contígua a mucosa	2	4,26
Área total da lesão superior a 900mm ²	9	19,14
Presença de mais de três lesões cutâneas	4	8,51
Idade inferior a 12 anos	3	6,38
Uso prévio de AM	4	8,51
Lesão localizada em orelha ou articulação	3	6,38
Julgamento clínico (paciente portadora de espondilite anquilosante)	1	2,13
Recusa do paciente em participar	4	8,51
TOTAL	47	100

AM: antimoníato de meglumina

As principais características demográficas e clínicas dos pacientes estudados são apresentadas na TABELA 3. Dentre as comorbidades, hipertensão arterial se destaca como a mais prevalente (11/38, 28,9%).

TABELA 3 – Características demográficas e clínicas dos pacientes tratados com infiltração intralesional de AM no CRL-CpqRR, 2015-2016

Característica		N	%
Gênero	Masculino	22	57,9
	Feminino	16	42,1
Escolaridade	Analfabeto	4	10,5
	1º grau completo ou incompleto	18	47,4
	2º grau completo ou incompleto	5	13,2
	3º grau completo ou incompleto	10	26,3
	Ignorado	1	2,6
Procedência	Região Metropolitana de Belo Horizonte	18	47,4
	Outros municípios/estados	20	52,6
Comorbidades	Hipertensão arterial	11	28,9
	<i>Diabetes mellitus</i>	1	2,6
	Asma	2	5,3
	Cardiopatía	2	5,3
	Hepatopatía	0	0
	Nefropatía	1	2,6
	Pneumopatía	0	0
	Alcoolismo	0	0
	Tabagismo	4	10,5
	Doença do colágeno	0	0
	Uso de corticoide	0	0
	Doença psiquiátrica	1	2,6
	Doença neurológica	0	0
	Drogadição	0	0
	Coinfecção com HIV	0	0

5.2 Resultados dos exames diagnósticos e características da doença

Em função dos critérios de inclusão adotados e descritos na seção 4.3, todos os pacientes obrigatoriamente tinham confirmação de infecção por *Leishmania* spp., seja por exame direto, por cultura, PCR ou exame anatomopatológico. Dos 38 pacientes incluídos, quatro vieram encaminhados de outros serviços de saúde para o CRL-CpqRR já com o diagnóstico de LC confirmado pela visualização de amastigostas em exame anatomopatológico, não sendo submetidos a novo procedimento de biópsia.

Dos 34 casos em que a biópsia foi realizada no CRL-CpqRR, a pesquisa do parasito pela técnica de *imprint* foi positiva em 22 (positividade de 64,7%, 22/34) e a cultura para *Leishmania* spp. mostrou-se positiva em 24 pacientes (positividade 70,6%, 24/34), 19 deles tinham o *imprint* também positivo (TABELA 4). Assim, com a primeira linha de investigação diagnóstica preconizada no CRL-CpqRR, ou seja, os exames parasitológicos (*imprint* e cultura), o diagnóstico da infecção por *Leishmania* spp. foi confirmado em 27 pacientes (79% dos casos). Em outros sete pacientes a confirmação de LC se deu pelo PCR-*Leishmania*, sendo que em um deles, amastigotas também foram identificadas no exame histológico. Em função da descontinuidade da produção do antígeno da IDRM, apenas 20 dos 38 pacientes desta casuística tiveram o exame realizado, positivo em 18 deles (18/20, 90%).

TABELA 4 – Resultados dos exames parasitológicos (*imprint* e cultura para *Leishmania*) entre os 34 pacientes submetidos a biópsia no CRL, 2015-2016

Resultados do <i>imprint</i>	Resultado da cultura			Total
	Positiva	Negativa	Contaminação	
Positivo	19	2	1	22
Negativo	2	5	0	7
Inconclusivo *	3	3	3	9
Total	24	10	4	38

*material escasso ou esfregaço de baixa qualidade

Quanto à apresentação da doença, todos os 38 pacientes apresentavam a forma cutânea localizada de leishmaniose e, ao todo, o número de lesões totalizava 43. Trinta e quatro pacientes (89,5%) tinham lesão única, três pacientes (7,8%) apresentavam duas lesões e apenas um paciente (2,6%) tinha 3 lesões. As lesões eram localizadas (TABELA 5) nos membros inferiores (MMII) em quase metade dos pacientes (18/38, 47,4%), seguido por membros superiores (MMSS) (12/38, 31,6%), cabeça (4 pacientes, 10,5%) e tronco (4 pacientes, 10,5%). O tempo de evolução da doença até o diagnóstico teve mediana de 12 semanas, com variação de 4 a 40 semanas.

Quanto a morfologia, 38 das 43 lesões tratadas eram úlceras (88,4%) e 5 lesões eram nódulo-papulares (11,6%). Os maiores diâmetros das lesões variaram de 4 a 43 milímetros. A mediana da área total de lesão foi de 456 mm², com intervalo interquartil 25-75% (IQ25-75%), variando de 228 a 716 mm². As principais medidas das lesões antes do início do tratamento estão apresentadas na TABELA 6.

TABELA 5 – Principais características das lesões de LC dos 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

Características		Número de pacientes	%
Número de lesões	1	34	89,5
	2	3	7,9
	3	1	2,6
Morfologia da lesão	Úlcera	34	88,4
	Nódulo/pápula	5	11,6
Localização da maior lesão	Cabeça	4	10,5
	MMSS	12	31,6
	MMII	18	47,4
	Tronco	4	10,5
Total		38	100%

MMSS: membros superiores MMII: membros inferiores

TABELA 6 – Principais medidas das lesões apresentadas pelos 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

	Medidas observadas	Mediana	IQ 25-75%
Lesão 1 (38 pacientes)	Maior diâmetro (mm)	25	6-43
	Área (mm ²)	429	189-715
Lesão 2 (4 pacientes)	Maior diâmetro (mm)	13	8-17
	Área (mm ²)	110	54-136
Lesão 3 (1 paciente)	Maior diâmetro (mm)	19	-
	Área (mm ²)	285	-

IQ 25-75%: intervalo interquartil 25 a 75%

5.3 Tratamento com infiltração intralesional de AM

Todos os 38 pacientes completaram o acompanhamento proposto, não havendo nenhuma perda de seguimento ou retirada do consentimento. A mediana do tempo total de tratamento com infiltração de AM por via intralesional foi de 40 dias, com IQ 25-75% variando de 28 a 49 dias. A mediana do número de infiltrações foi de 6 (IQ 25-75% 4-8) e o volume total de Glucantime[®] infiltrado ao longo de todo o tratamento, por paciente, teve mediana de 23,4 ml (IQ 25-75%:11,9-41,5ml). Assim, de forma aproximada, este volume distribuído em 6 infiltrações corresponderia a 3,9 ml por infiltração semanal, o que equivale a 315,9 mg de Sb^v a cada sete dias. Também por aproximação, considerando a mediana da área total de lesão por paciente de 456 mm² nesta população, a mediana de volume de Glucantime[®] infiltrado por mm² de lesão foi 0,06 ml. O intervalo programado entre as infiltrações era de 7 ± 3 dias, contudo, foram observados intervalos que variaram de 5 a 21 dias entre as aplicações, o que ocorreu por adiantamentos ou por suspensões temporárias, decorrentes de contraindicação à infiltração por presença de infecção bacteriana no sítio da lesão, conveniência do paciente ou não comparecimento à consulta agendada (por falta de transporte, feriados ou por

abstenção). As variações nos intervalos entre as aplicações resultaram em um intervalo médio de 7,6 dias com desvio padrão de 2,2 dias.

5.4 Evolução clínica em relação à cura

Entre os dias 42 e 49 de tratamento, dois dos 38 pacientes (5,3%) apresentavam lesão com tamanho maior ou igual a 50% de sua área inicial, sendo seu o desfecho no D45 (momento da avaliação de *resposta inicial*) considerado como *falha terapêutica*. Ambos os pacientes apresentavam lesão ulcerada única em região peri-maleolar. Estes pacientes tiveram a terapia intralesional com AM suspensa de maneira definitiva e foram submetidos a terapia com AM por via parenteral, com posterior cura de suas lesões. Ainda no D45, 16 pacientes (42%) apresentavam epitelização completa de suas lesões, com ausência de sinais inflamatórios e 20 pacientes (52,6%) apresentavam melhora em suas lesões, mas ainda consideradas ativas. A TABELA 7 exibe os dados da resposta inicial e cura inicial com o tratamento intralesional.

TABELA 7 – Resposta inicial e Cura inicial com tratamento por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

Desfecho	Resposta inicial (%)	Cura inicial (%)
Melhora parcial	16 (42)	-
Cura	20 (53)	33 (86,8)
Falha	2 (5)	5 (13)
Total avaliado	38 (100)	38 (100)

Aos 90 dias do início do tratamento, mais três pacientes tiveram o diagnóstico de *falha terapêutica*, totalizando cinco casos com este desfecho desfavorável (13%). Os outros 33 pacientes (86,8%) foram considerados curados, com intervalo de confiança de 95% (75,6 - 98,1). A mediana de tempo até a cura foi de 7 semanas com variação mínima-máxima de 3 a 16 semanas.

A FIGURA 1 representa a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para o desfecho “*evolução para cura*” e ilustra o tempo transcorrido entre o primeiro dia do tratamento até a data da cura, em semanas.

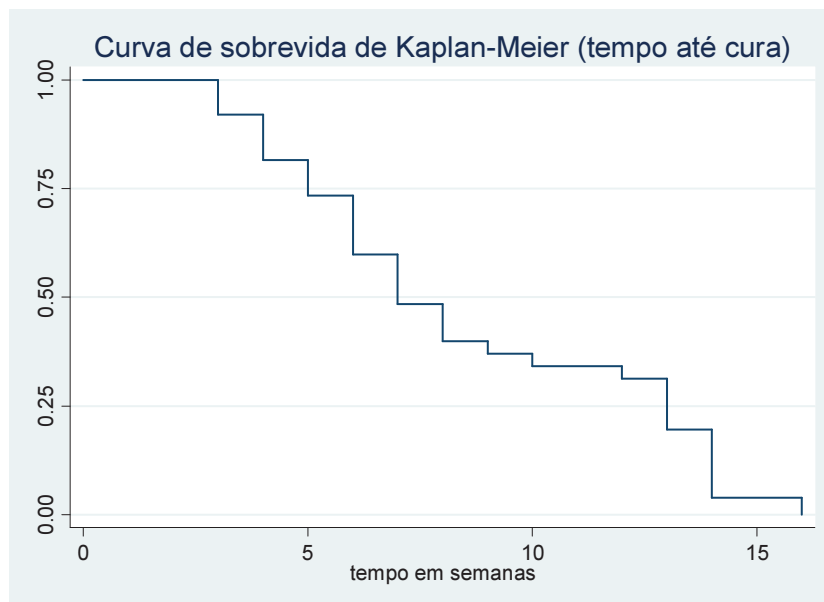


FIGURA 1 – Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier (tempo até cura) para 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, com 33 pacientes curados, CRL-CpqRR, 2015-2016

Todos os cinco pacientes que evoluíram como falha terapêutica apresentavam persistência de atividade inflamatória (infiltração local), sendo que os dois casos classificados como *falha terapêutica* no D45 apresentavam persistência de úlcera.

Os outros três pacientes, todas mulheres, que não evoluíram para a cura (D90) apresentavam epitelização completa de suas úlceras exceto uma, que apresentava apenas uma área crostosa de aproximadamente 3 mm, interpretada como úlcera residual. Destas três, as duas com lesões cuja atividade da doença se caracterizava unicamente por infiltração local em suas lesões, em região cervical e face, respectivamente, receberam terapia de resgate com AM por via sistêmica, com cura. A paciente que ainda apresentava uma úlcera residual, recebeu uma infiltração intralesional de AM adicional, tendo evoluído a seguir (aproximadamente 20 dias após a terapia de resgate

com infiltração intralesional de AM) com cicatrização completa da úlcera e regressão total da infiltração local. Optou-se no caso desta paciente por este curso, por esta apresentar contra-indicação formal ao uso do AM, por ter perdido uma aplicação dentro do período do estudo por questões sociais e pelo fato da lesão apresentar atividade muito discreta, prontamente resolvida com uma aplicação extra.

Em síntese e de acordo com os critérios adotados neste estudo, foram observadas cinco falhas com a infiltração intralesional de AM (13,2%) até a avaliação de D90. Estes cinco pacientes alcançaram cura com a terapia de resgate com AM por via sistêmica (quatro casos) ou por dose adicional de infiltração intralesional (um caso).

A exploração dos fatores possivelmente associados a cura foi inicialmente realizada por análise univariada (TABELA 8), comparando-se as características demográficas, clínicas e aquelas relacionadas à terapia entre pacientes curados e não curados aos 90 dias de tratamento. As seguintes variáveis apresentaram associação com o desfecho *cura* no D90, com valor de p igual ou inferior a 0.2, sendo incluídas no modelo de análise de regressão logística: área da lesão, volume total infiltrado e positividade ao *imprint*.

Utilizando-se o método de verossimilhança, a única variável que permaneceu no modelo (TABELA 9), confirmando sua associação com cura, foi a área da lesão antes do tratamento, donde se extrapola que cada mm^2 de aumento na área da lesão reduz em 1% a probabilidade de cura aos 90 dias do início do tratamento. A adequação do modelo foi testada e confirmada pelo teste de Hosmer-Lemeshow (valor de $p=0,34$).

TABELA 8 – Análise univariada dos fatores associados ao desfecho *cura* no D90 entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqrR, 2015-2016

Variáveis	Pacientes curados no D90 ± 15 dias n=33	Pacientes não curados no D90 ± 15 dias n=5	Valor de p
Média de idade, em anos (desvio padrão)	42,9 (18)	48,2 (20,7)	0,6
Sexo masculino, nº de pacientes (%)	20 (60,6%)	2 (40%)	0,4
Lesão do tipo úlcera (%)	29 (87,9%)	5 (100%)	1
Lesão única (%)	29 (87,9%)	5 (100%)	1
Tempo de doença em semanas, média (desvio padrão)	37,2 (14,9)	42 (10,5)	0,5
Área da maior lesão antes do tratamento, média (desvio padrão)	416,6 (268,5)	819,4 (333,7)	0,04
<i>Imprint</i> positivo (%)	20 (60,6%)	2 (40%)	0,2
Número de infiltrações, média (desvio padrão)	5,7 (2,2)	6,4 (1,1)	0,5
Tempo total de tratamento em dias (desvio padrão)	37,1 (14,8)	42 (10,5)	0,5
Volume aplicado no D1 na maior lesão em mililitros (desvio padrão)	4,6 (2,8)	8,4 (5)	0,016
Volume total infiltrado em mililitros (desvio padrão)	25,8 (18,4)	41,6 (17,7)	0,1
Razão entre volume total infiltrado/área inicial da lesão (desvio padrão)	0,07 (0,1)	0,06 (0)	0,1
Ocorrência de evento adverso grau 3 ou 4 durante o tratamento	2	1	0,4
Procedência de BH e RM (%)	16 (48,5%)	2 (40%)	0,9
Peso em quilos (desvio padrão)	71,3 (15,7)	69,3 (18,2)	0,8

D1: primeiro dia de tratamento BH: Belo Horizonte RM: Região metropolitana de Belo Horizonte

TABELA 9 – Modelo final da análise de regressão logística para cura no D90 ± 15 dias entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqrR, 2015-2016

	Valor de p	Exp. (B)	Intervalo de Confiança Exp. (B)
Área da lesão antes do tratamento	0,024	0,995	0,991 – 0,999

5.5 Eventos adversos

Os eventos adversos foram categorizados em clínicos (locais ou sistêmicos) ou laboratoriais, estes últimos, relacionados à vigilância de parâmetros hematológicos, bioquímicos e eletrocardiográficos. Todo sinal ou sintoma ou alteração laboratorial de ocorrência ou intensificação após a inclusão do paciente no estudo foi considerado evento adverso (OMS, 2012), independente do estabelecimento de relação causal com o tratamento administrado. Com base nas tabelas propostas pelo grupo de pesquisa ACTG (DAIDS, 2014), os eventos foram classificados quanto a gravidade (graves e não graves) e quanto a sua intensidade (graus 1, 2, 3 e 4). Apenas um evento grave foi documentado durante o estudo.

5.5.1 Eventos clínicos

No total, 34 dos 38 pacientes (89,5% dos casos tratados), reportaram algum evento adverso clínico. A maior parte dos pacientes apresentou eventos de natureza local (34/38, 89,5%), sendo menor a taxa de pacientes com eventos sistêmicos (18/38, 47,4%). Dentre os 34 eventos adversos clínicos notificados, 20 foram de intensidade 1 (58,8%), 12 foram de intensidade 2 (35,4%) e um evento foi classificado como de intensidade 3 (2,9%), e um evento de intensidade 4, que também foi considerado “grave” (2,9%). Estes dois eventos de maior intensidade (graus 3 e 4) ocorreram em dois pacientes diferentes e são descritos em detalhes mais à frente. Em ambos os casos o tratamento com infiltração intralesional de AM foi suspenso de forma definitiva, sendo os pacientes acompanhados sem qualquer terapia adicional, com evolução para cura no D90.

Durante o período de tratamento, seis pacientes relataram quadro respiratório agudo e leve, tendo tido diagnóstico de síndrome respiratória viral. Estes pacientes apresentaram tosse e relato de dispneia, além de sintomas de acometimento de vias áreas superiores, tais como coriza e obstrução nasal, em um deles acompanhado por febre. Em todos os casos houve regressão espontânea em menos de cinco dias. Uma paciente teve ainda o diagnóstico de dengue confirmado sorologicamente durante o período de tratamento com infiltração intralesional de AM.

Do total de 221 infiltrações intralesional de AM realizadas nestes 38 pacientes, registraram-se seis episódios de infecção cutânea perilesional (15,8% dos casos), sendo que em todos os casos houve melhora clínica após introdução de terapia antimicrobiana e cuidados locais. A lista completa dos eventos adversos clínicos locais é apresentada nas TABELA 10 e, de eventos clínicos sistêmicos, na TABELA 11.

TABELA 10 – Eventos adversos locais notificados entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

Evento adversos locais	Número de pacientes	%
Prurido	30	79
Edema	17	44,7
Dor	13	34,2
Eritema	12	31,6
Exsudação da lesão	10	26,3
Sangramento	3	7,9
Sensação de queimação	2	5,3
Aparecimento de vesícula/bolha	2	5,3
Celulite (calor, eritema, dor, induração)	2	5,3

TABELA 11 – Eventos adversos sistêmicos notificados entre 38 pacientes tratados por infiltração intralesional de AM, CRL-CpqRR, 2015-2016

Evento adversos sistêmicos	Número de pacientes	%
Mialgia	6	15,8
Astenia	6	15,8
Tosse/Dispneia	6	15,8
Dor articular	4	10,5
Cefaleia	2	5,3
Febre	2	5,3
Hiporexia	1	2,6
Alterações gastrointestinais	1	2,6
Rash cutâneo	1	2,6
Alterações cardiovasculares	1	2,6

Descrição dos eventos adversos de intensidade 3 e 4

Relato 1 (referente ao evento adverso grau 3): paciente feminina, 40 anos, apresentando lesão ulcerada única em membro superior direito. Após a 3ª infiltração intralesional de AM, por volta do 15º dia do estudo, apresentou edema, hiperemia e calor em todo antebraço direito. Sem febre ou outros sinais sistêmicos, foi diagnosticada com celulite e tratada com antibioticoterapia por via oral por 7 dias, com melhora dos sinais logísticos. A 4ª infiltração intralesional foi adiada em 10 dias e doze horas após sua realização, a paciente voltou a apresentar edema, calor, hiperemia de todo antebraço direito e, desta vez, evoluiu com lesões bolhosas extensas, sem febre ou sinais de toxemia. Novamente tratada com antibioticoterapia, inicialmente por via venosa, além de cuidados locais e analgesia.

A recorrência do quadro, sua relação temporal com a infiltração da medicação e a natureza progressiva da reação levantaram a possibilidade de reação de hipersensibilidade à droga, embora infecção bacteriana não possa ser afastada. A terapia intralesional com AM foi suspensa (recebeu 4 infiltrações) e, mesmo sem nenhuma outra terapia específica, a lesão inicial de LC evoluiu para cicatrização completa e a paciente permanece sem sinais de recorrência

em seguimento, até agora, de 16 meses. A relação deste evento com o tratamento em estudo foi classificada como possível.

Relato 2 (referente ao evento adverso grau 3): paciente masculino, 65 anos, portador de lesão ulcerada única em membro inferior direito, hipertenso. Submetido às três primeiras infiltrações intralesionais de AM sem intercorrências, exceto pelo relato de prurido e edema transitórios peri-lesionais em dias subsequentes à infiltração. Cerca de três minutos após início da quarta sessão de infiltração intralesional, relatou mal-estar, sudorese e apresentou rash eritematoso em tronco e membros. Evoluiu com hipotensão transitória e taquicardia sinusal (frequência em torno de 120 bpm), com melhora espontânea em aproximadamente 30 minutos, sendo suspensa a sessão de infiltração intralesional de AM. Nenhuma outra alteração foi detectada nas avaliações complementares realizadas durante o episódio, nomeadamente glicemia capilar, oximetria de pulso, exame clínico neurológico e ausculta pulmonar. Ao eletrocardiograma, observou-se discreta alteração na duração do intervalo Qt corrigido (Qtc), que neste caso alcançou 0,46 ms (Qtc prévio 0,43 ms), com documentação de normalização em novo ECG realizado com 30 minutos de intervalo.

Foram realizadas mais duas tentativas de infiltração nas semanas subsequentes, com ambiente tranquilo e monitorização eletrocardiográfica e oximétrica contínuas, tendo o paciente apresentado os mesmos sinais e sintomas, necessitando inclusive de infusão venosa rápida de soro fisiológico para o re-estabelecimento da pressão arterial. A terapia por infiltração intralesional de AM foi então definitivamente suspensa por suspeita de reação de hipersensibilidade à droga. Mesmo sem outra terapia específica para leishmaniose, o paciente evoluiu com epitelização completa da úlcera e permanece sem sinais de recorrência de LC em 7 meses de seguimento. A relação deste evento com o tratamento em estudo foi classificada como possível.

5.5.2 Eventos laboratoriais e eletrocardiográficos

Os 38 pacientes realizaram, durante o seguimento do estudo até o D90, o total de 297 exames de ECG. Deste total, verificou-se apenas quatro exames (1,3%) com alterações novas, todas de intensidade 1, sendo que três consistiram em alteração de frequência cardíaca caracterizada como taquicardia sinusal. O quarto evento adverso eletrocardiográfico notificado, um alargamento de intervalo Qt para 0,46ms, foi anteriormente descrito no relato feito do único evento adverso de intensidade 4 observado até o momento neste estudo.

Dois pacientes já apresentavam alteração eletrocardiográfica identificada antes de sua inclusão no estudo: um paciente com flutter atrial, que a partir da data da 5ª infiltração apresentou conversão espontânea a ritmo sinusal, mantido até o acompanhamento de 6 meses, e outro paciente, usuário de atenolol, com bloqueio atrioventricular de 1º grau, que não se alterou durante o tratamento. Nenhum deles apresentou qualquer queixa cardiológica.

Em relação aos exames hematológicos e bioquímicos, sete pacientes (18,4%) entre os 38 avaliados apresentaram alguma alteração durante o monitoramento semanal realizado. Todas as alterações bioquímicas, relacionadas às dosagens de TGO, TGP, amilase e fosfatase alcalina, foram classificadas como de intensidade grau 1. Em nenhum destes pacientes foram detectados sintomas clínicos associados a estas alterações, tais como náusea, vômito, icterícia ou dor abdominal, manifestações relacionadas aos diagnósticos de hepatite ou pancreatite. As alterações observadas nas dosagens de amilase e fosfatase alcalina ocorreram em uma única ocasião cada. Dos quatro casos com alterações nos resultados de transaminases, dois pacientes tiveram a alteração detectada em dois ou mais exames consecutivos, e não foram acompanhados por qualquer queixa clínica. Nos dois casos as alterações se mantiveram na mesma intensidade, com normalização após o término do tratamento com infiltração intralesional de AM.

A única alteração hematológica categorizável como evento adverso de acordo com as tabelas propostas pelo ACTG, foi um resultado de contagem de plaquetas de $61.000/\text{mm}^3$, classificada como de intensidade grau 2 e observada em paciente feminina no dia da sexta infiltração intralesional. A paciente encontrava-se assintomática, sem alterações nos níveis de hemoglobina e de leucócitos e a contagem de plaquetas repetida após 7 dias, sem suspensão do tratamento baseado na infiltração intralesional de AM, foi $178.000/\text{mm}^3$.

6 DISCUSSÃO

A principal contribuição deste estudo é a observação de uma taxa de cura com a infiltração intralesional com AM de 86,8%, para o tratamento da LC por *L. (V.) braziliensis*, não inferior, por comparação indireta, aos 71% observados com o tratamento com AM por via parenteral (revisão sistemática por TUON e colaboradores, 2008). Ainda que observada em um estudo não controlado, a taxa de cura aqui descrita, aos 90 dias do início do tratamento, sugere a eficácia da abordagem intralesional com AM, ao menos para grupo selecionado de portadores de LC.

Planejou-se estudar uma população com amostra calculada e incluída a partir de critérios de elegibilidade previamente definidos, em estudo prospectivo desenhado para avaliação de eficácia e segurança da infiltração intralesional com AM. Além disto, a intervenção terapêutica foi previamente padronizada, sendo o POP do procedimento de infiltração intralesional elaborado a partir da evidência científica disponível e validado por metodologia adequada (dados em fase de publicação).

Este estudo está alinhado à padronização metodológica atual para condução de ensaios clínicos em LC, proposta por Olliaro e colaboradores, em 2013, o que deve permitir que seus dados sejam agrupados e comparados com outros produzidos por outros grupos e em outras regiões.

A maior parte dos pacientes incluídos neste estudo apresentava poucas lesões ulceradas, em 89,5% dos casos única e em 79% localizada nos membros. A importância desta observação encontra-se no fato de serem supostamente estas as características de lesões com maior taxa de cura (BRASILa, 2017), na mesma medida em que são também as mais afeitas à abordagem intralesional, por permitirem a infiltração manual subcutânea de volumes toleráveis de medicamento. É neste sentido necessário considerar a hipótese de que a eficácia descrita aqui se deva também ao fato deste grupo selecionado de pacientes apresentar melhor resposta terapêutica.

Por outro lado, como exposto anteriormente, os pacientes com LC localizada constituem mais de 70% dos casos de LT, de acordo com séries nacionais (BRASILa, 2017). Os dados aqui reunidos podem assim ser considerados representativos do espectro de LC em nosso meio: estudamos uma população predominantemente adulta e masculina, tal como se dá a distribuição habitual da doença no Brasil (DATASUS, 2005). Mais que isto, a abordagem aqui proposta, baseada na infiltração intralesional de AM, se confirmada sua eficácia e segurança, seria elegível para maioria dos pacientes acometidos por LC.

Deve-se salientar que nenhuma das possibilidades de tratamento para LC atualmente disponíveis para tratamento da LC nas Américas (OPAS, 2013) exhibe taxa de cura acima da observada neste estudo. Segundo Tuon e colaboradores (TUON *et al.*, 2008), em revisão sistemática, foram as seguintes taxas de cura observadas com as diversas alternativas terapêuticas: termoterapia (57,7%), miltefosina (75,4%) e pentamidina (51,3%). Por sua vez, taxa de cura semelhante à obtida com AM por via parenteral, de 72%, foi observada com a pentamidina administrada por via intralesional (SOTO *et al.*, 2016). Tal constatação corrobora a inexistência, no cenário atual, de uma opção terapêutica “ótima” ou significativamente superior às demais, no quesito eficácia.

Cabe discutir as definições de cura aqui adotadas, em consonância com as propostas atuais de desfechos para ensaios clínicos em LC (OLLIARO *et al.*, 2013). De acordo com esta padronização, pacientes evoluindo com melhora clínica ainda podem ser classificados como *casos de falha terapêutica*, se não alcançarem redução de 50% e 100% do tamanho inicial da lesão, respectivamente aos 45 e 90 dias do início do tratamento, e no último caso, necessariamente associada a ausência de inflamação. Tais desfechos podem ser considerados excessivamente rigorosos para a prática clínica, dado que alguns casos, conforme nossa própria observação, evoluem com cura nas semanas subsequentes a estes marcos temporais, sem nenhuma outra terapia adicional.

A realização de estudos incluindo subgrupos de pacientes com LC e a exploração comparativa de outros desfechos podem contribuir para a compreensão da influência dos critérios adotados nas taxas de cura reportadas. Como alternativa, uma proposta seria a utilização de desfechos secundários, tais como taxa de sucesso cumulativo. Desta forma, um paciente não curado aos 45 dias após início do tratamento, mas em franca melhora, poderia ser reavaliado com 90 e 180 dias para a avaliação da resposta tardia ao tratamento, como um desfecho secundário.

Da mesma maneira, pacientes com desfecho do tratamento caracterizado como falha ao D90, por ainda apresentarem resquícios de atividade inflamatória, apesar de terem obtido epitelização da lesão, poderiam se beneficiar na prática, de extensão da terapia intralesional. Estas especulações são confirmadas pelas observações deste estudo, visto que ao menos três dos cinco pacientes caracterizados como casos de *falha terapêutica*, por manutenção de atividade inflamatória no D90, se encaixam nesta situação, confirmando a hipótese do benefício de um período de observação mais longo e, eventualmente, de prolongamento da terapia. De fato, uma paciente caracterizada como caso de falha terapêutica nesta coorte evoluiu para a cura completa após uma única infiltração adicional de AM e mais 25 dias de observação.

Ainda relativo ao rigor do critério proposto, no que se refere à definição de *cura* em ensaios clínicos em LC, duas ponderações relacionadas a especificidade da doença no Novo Mundo podem ser mencionadas, a favor de critérios menos exigentes:

- a alta taxa de toxicidade observada com o uso de AM por via parenteral justificaria a redução do limiar mínimo aceitável de cura ou aumento do tempo necessário para cura com uma abordagem terapêutica, desde que a abordagem oferecesse, em contrapartida, menor toxicidade;

- a baixa taxa de cura espontânea esperada para LC nas Américas (COTA *et al*, 2016), especialmente na infecção por *L. (V.) braziliensis* – em torno de 6%, reforçam a necessidade de instituição de terapia específica em oposição à conduta expectante, considerada uma possibilidade para indivíduos de alto risco para toxicidade com os tratamentos vigentes em regiões onde predominam espécies de *Leishmania* relacionadas a LC de evolução natural autolimitada.

Esta flexibilidade de abordagem se justificaria porque, possivelmente no futuro, com o acúmulo de evidências, nas diversas regiões, para o uso das terapias existentes, como termoterapia, crioterapia, pentamidina e miltefosina, dentre outras, inclusive em combinação, múltiplas abordagens poderiam compor um variado leque de opções. Desta maneira seria possível individualizar o tratamento, oferecendo a cada paciente a alternativa terapêutica com a melhor relação eficácia-toxicidade, de acordo com suas especificidades.

Ainda sobre a identificação do subgrupo ideal de pacientes elegíveis para cada modalidade terapêutica, torna-se relevante avaliar os fatores que se mostraram associados à cura. Neste estudo, o sucesso da terapia mostrou-se inversamente associado ao tamanho da lesão, observação cujo significado pode estar relacionado não exatamente à taxa de cura, mas sim ao tempo até a cura, já que a velocidade de re-epitelização varia com a extensão da área acometida. Neste sentido, a observação do desfecho “tempo até cura” talvez seja um parâmetro, no mínimo complementar, para a avaliação da resposta à terapia na LC. Outros determinantes tais como diferentes espécies de *Leishmania* e número de lesões não puderam ser avaliadas neste estudo pelo pequeno tamanho da amostra, além dos fatores relacionadas ao padrão de resposta imune, aspecto não contemplado na metodologia proposta.

Outros autores se dedicaram ao estudo dos fatores associados a falha terapêutica, todos com o uso parenteral de derivados de antimônio. Valencia e colaboradores (2012), no Peru, em uma tentativa de construção de um escore de risco de falha, além de idade, número de lesões e espécie de *Leishmania*

envolvida, identificaram que tempo curto de doença (menos de 5 semanas) e lesões pequenas, seriam fatores relacionados a falha, o que possivelmente estaria relacionado à cronologia recente da doença. Por sua vez, Cuentas e colaboradores (2008), também no Peru, encontraram a idade, o tempo de residência em área endêmica, a duração da doença, além da presença de múltiplas lesões e a espécie de *Leishmania* como fatores de risco para falência terapêutica. No Brasil, Romero e colaboradores (2001) identificaram infecção por *L. (V.) guyanensis* e presença de múltiplas lesões como variáveis relacionadas a falha terapêutica.

Quanto à exposição ao AM, a utilização de menor quantidade do medicamento (Glucantime®) possivelmente tem impacto na frequência dos eventos adversos (LYRA et al., 2016) e, certamente, nos custos do tratamento. Os insumos e gastos com deslocamento dos pacientes para as 20 aplicações, preconizadas pelo MS para o tratamento parenteral com AM, contrastam significativamente com o número de visitas às unidades de saúde que se extrapola da mediana de seis infiltrações intralesionais aqui descritas. Em relação ao volume total de AM consumido para um tratamento completo, considerando a dose máxima de 3 ampolas ao dia para o tratamento parenteral, passaríamos de um total de 60 ampolas no tratamento sistêmico para a mediana de cinco ampolas no tratamento intralesional, também com base nos resultados aqui observados.

Já em relação ao aspecto segurança, usando um protocolo de monitoramento clínico e laboratorial baseado em busca ativa, nossa experiência também confirma baixas taxas de eventos adversos com a terapia intralesional com AM, especialmente de eventos sistêmicos. Salienta-se que os critérios de inclusão e exclusão adotados neste estudo permitiam o tratamento de pacientes com comorbidades, exceto as disfunções graves dos sistemas renal, hepático e cardíaco. Mesmo admitindo estas condições, nenhum dos pacientes incluídos apresentava infecção pelo HIV ou outras imunossupressões.

Por outro lado, foram incluídos dois pacientes portadores de alterações eletrocardiográficas: flutter atrial e bloqueio atrioventricular de 1º grau, ambos toleraram bem a terapia intralesional, sem qualquer intercorrência cardiológica, seja clínica ou eletrocardiográfica. O paciente diagnosticado com flutter tinha 70 anos, relatava correção de comunicação inter-atrial dois anos antes, tinha sinais de sobrecarga ventricular esquerda ao ECG e fazia uso de anticoagulação, sem sinais de insuficiência cardíaca. Já o paciente com bloqueio atrioventricular de 1º grau tinha 68 anos, um intervalo P-R de 280 ms (normal até 200ms) ms, sem nenhuma outra alteração, seja da despolarização ou repolarização ventricular; era hipertenso e fazia uso regular de atenolol. A principal justificativa para estes pacientes serem incluídos, além de estarem em conformidade com os critérios de inclusão e exclusão pré-definidos para este estudo, é a constatação da impossibilidade de se oferecer, a estes dois casos, a terapia convencional com AM por via parenteral, uma vez que apesar de assintomáticos, tratavam-se de indivíduos com mais de 50 anos e portadores de alguma anormalidade cardiológica, ainda que nenhuma delas incluída na lista de contra indicação absoluta ao uso parenteral de AM. Estes são achados semelhantes aos encontrados no INI-FIOCRUZ (VASCONCELOS *et al.*, 2012), onde pacientes com contraindicações ao AM por via parenteral, foram tratados com AM intralesional, como alternativa menos tóxica.

Estes índices de eventos adversos são similares aos encontrados para o tratamento intralesional em revisão sistemática sobre toxicidade no tratamento da leishmaniose cutânea no Novo Mundo (OLIVEIRA *et al.*, 2011). De acordo com esta revisão, eventos brandos são reportados por aproximadamente 98% dos pacientes submetidos ao tratamento intralesional com AM, representados especificamente por prurido, eritema e edema local. De modo semelhante, dor local e prurido foram descritos por 64% e 79% dos pacientes aqui descritos. Também de acordo com nossos dados, alteração da repolarização ventricular e a elevação das enzimas pancreáticas foram observadas em menos de 3% dos pacientes em tratamento intralesional, em oposição aos 25% e 60%, respectivamente, descritos na literatura com a terapia sistêmica com AM (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Elevação de transaminases ocorreram em 43.3% dos casos da literatura em tratamento parenteral com AM e em 10,5% dos

pacientes neste estudo. Prolongamento do Qtc e arritmia foram descritas em respectivamente 16% e 3.3% dos pacientes reportados na literatura com a terapia com AM por via parenteral (OLIVEIRA *et al.*, 2011), sendo que neste estudo menos de 3% apresentaram alargamento do Qtc e nenhuma arritmia (nova) foi registrada.

Em que pesem as diferenças metodológicas nos registros que sustentam estas análises, além do número reduzido de pacientes observados, este exercício de comparação corrobora a baixa frequência de eventos adversos associada à terapia intralesional com AM, especialmente os efeitos mais graves relacionados à toxicidade cardíaca e pancreática. A implicação imediata desta constatação seria a possibilidade de dispensar o monitoramento ou de aumentar o intervalo com que este é realizado. Esta possibilidade, caso confirmada em estudos subsequentes, simplificaria o acompanhamento do tratamento e reduziria seu custo para o sistema de saúde, visto que os gastos com monitoramento (eletrocardiográfico, clínico e laboratorial) habitualmente recaem sobre o SUS em sua esfera municipal. Desta forma, ao simplificar e desonerar o tratamento proposto, estaríamos principalmente promovendo ampliação do acesso à terapia, com impacto direto no planejamento da assistência aos pacientes com LC, em especial aqueles residentes em locais sem acesso a infraestrutura laboratorial para monitoramento dos eventos adversos sistêmicos.

Cabe salientar que nos dois casos com eventos adversos de intensidade maior (3 e 4) houve a suspeita de tratar-se de reação de hipersensibilidade ao AM, o que deve por sua vez alertar para o risco de complicações graves também com esta abordagem local. Além disso, como esperado para uma terapia baseada em infiltração subcutânea, eventos adversos no sítio da lesão foram frequentes, na grande maioria das vezes de intensidade leve, o que em última análise pode ser interpretado como ocorrências sem ameaça à vida do paciente.

Ressalve-se que qualquer droga oral, com baixa toxicidade, poderia prover as vantagens descritas acima, fruto de um monitoramento mais simples. Assim, poderíamos dispensar a etapa da aplicação por um médico, o desconforto (dor) e inconveniência da aplicação, os frequentes eventos adversos locais (como infecção) e eventuais sistêmicos, assim como a necessidade de treinar os profissionais necessários para a aplicação. Entretanto, com base no exposto até aqui, o nosso entendimento é de que cada alternativa (quando disponível) ocupará seu nicho, pois uma droga para o tratamento de LC, oral, eficaz e pouco tóxica, não está disponível.

Assim, parece viável a construção de um algoritmo de abordagem terapêutica de acordo com as características da doença. Partindo desta premissa, uma proposta seria reservar a terapia com AM por via parenteral para pequeno universo de pacientes com doença não elegível para terapia local, por exemplo, aqueles com múltiplas lesões, adotando-se a terapia intralesional para grande parte dos pacientes classificados hoje como portadores de contraindicações ao AM. Miltefosina, terapia intralesional, termoterapia e anfotericina B lipossomal são opções que movidas para a primeira linha permitiriam colocar a preocupação com a segurança terapêutica em pé de igualdade com a eficácia do tratamento.

Apesar de agregar evidência de eficácia especificamente para um esquema terapêutico que pode ser considerado extensivo (até 8 infiltrações semanais), se comparado a outros já propostos, ainda que revelando eficácia acima da esperada, nossos resultados não esgotam a discussão sobre a posologia ótima para abordagem intralesional. A diversidade de espécies de *Leishmania* e diferenças nos critérios para avaliação de cura, e na própria técnica de infiltração, tornam a comparação difícil. Na Bolívia, Soto e colaboradores (SOTO *et al.*, 2013) têm proposto intervalos menores e pequeno número de infiltrações (três ou cinco), com taxa de eficácia de 70% e de 73% (SOTO *et al.*, 2016), numa região de predomínio de *L. (V.) braziliensis*. No Brasil, a maior experiência com a técnica intralesional vem sendo construída no estado do Rio de Janeiro, por pesquisadores do INI-FIOCRUZ que tem utilizado intervalos maiores entre as infiltrações, em torno de 15 dias, mas realizadas ao longo de

períodos prolongados. Os resultados descritos revelam taxa de cura de 70% (HOAGLAND, 2006). Na nossa experiência, embora o protocolo permitisse até o máximo de oito infiltrações, a mediana do número de infiltrações efetivamente realizadas foi seis. Nenhuma relação foi detectada entre cura aos 90 dias de seguimento e o número de infiltrações, observações que sugerem que um esquema com menor número de aplicações possa alcançar taxas similares de cura.

Em relação a necessidade de sistematização da técnica de infiltração, estudo do nosso grupo de pesquisa validou um procedimento operacional padrão para a realização do procedimento (da SILVA *et al.*, 2017). Além da avaliação da coerência e correção do documento-guia, aspectos referentes à reprodutibilidade de execução e à confiabilidade do resultado foram verificados. A taxa de adesão às instruções e de obtenção do resultado pretendido (saturação da lesão) foram altas entre profissionais com e sem experiência prévia no procedimento, que se mostrou reprodutível e confiável. A taxa de sangramento foi baixa e a boa tolerância ao procedimento, presumida a partir da resposta à escala de dor aplicada aos pacientes, confirmaram que a técnica é viável e pode ser avaliada em futuros ensaios clínicos de eficácia e segurança.

Outra questão ainda não resolvida é o risco de acometimento mucoso, meses a anos após a terapia local para LC. Nesta fase do estudo, apenas dados de seguimento de curto prazo são apresentados. Entretanto, como rotina do CRL-CpqRR, serviço onde se realiza este projeto, todos os pacientes curados de LC são acompanhados pelo mínimo de 12 meses após o término do tratamento, recebem orientação sobre o risco de recidiva, inclusive mucosa, e são orientados a retornar em caso de aparecimento de novas lesões. Assim, no futuro, dados de desfecho a longo prazo poderão ser apresentados.

Ainda que o presente estudo não possa estimar o risco de complicação mucosa tardia após a infiltração intralesional de AM, a revisão das justificativas apresentadas nos principais manuais destinados a orientação do tratamento de LT, e das publicações identificadas, nos impele a afirmar que a recomendação

do tratamento sistêmico, como prevenção da LM, não dispõe de um lastro real em evidências. Mesmo assim, considerando a necessidade de se estabelecer recomendações terapêuticas que zelem prioritariamente pela segurança dos pacientes, a despeito da limitada evidência disponível, é preciso avaliar qual a estimativa do benefício obtido com a intervenção em questão, neste caso, a prevenção da doença mucosa com o uso do tratamento sistêmico com AM em dose plena.

Embora os dados disponíveis não permitam uma avaliação precisa do benefício, é possível estimar o *number needed to treat* (NNT), número de tratamentos para a obtenção do benefício, mesmo critério avaliado pela CONITEC e outras comissões de avaliação de tecnologias antes da incorporação de novas intervenções (BRASILd, 2016). Assumindo o limite superior de 5% (OMS, 2010) para a taxa de ocorrência de complicação mucosa tardia e o benefício hipotético elevado de 96,8% (NETO *et al.*, 1990) do AM por via sistêmica na prevenção desta complicação, com taxa de sucesso terapêutico de 100%, pode-se estimar, com base na média de 24.475 casos anuais de LC no Brasil, que 1.224 (5% de 24.475) pacientes desenvolveriam a complicação mucosa. Usando a taxa de proteção de 96,8%, hipotetizada para a terapia parenteral com AM, 39 (3,2% de 1224) pacientes apresentariam a complicação mucosa, ainda que tratados sistemicamente com este medicamento, o que representa uma incidência hipotética no grupo com AM de 0,0016 versus uma incidência projetada de 0,05 no grupo não protegido pelo AM. Isto responde por um risco atribuível de 4,84%, ou posto de outra forma, um NNT de 21 (1/0,048). Ou seja, é preciso tratar 21 pessoas para LC para que cada LM seja evitada.

Novamente nos valendo dos dados da letalidade com dengue como contraponto teórico (letalidade de 0,04/100 doentes) para se dimensionar o problema e, considerando para o cálculo do risco atribuível os dados da letalidade por LT (0,51/100 doentes, segundo dados do Brasil, e 1,34/100 doentes, de acordo com dados de Minas Gerais), podemos utilizar a população acometida por dengue como grupo controle, isto permitiria calcular um risco atribuível ao AM (subtraído da letalidade de dengue) de 0,0047 para o Brasil e

0,013 para Minas. Posto de outra forma, estes números traduzem que o *number needed to harm* (número de pessoas necessário tratar para causar um evento danoso) da terapia para LT seria de 213 (1/ 0,0047), para os dados nacionais e 77 (1 / 0,013), para Minas Gerais.

Em outras palavras, para cada 213 e 77 tratamentos realizados para LT no Brasil e em Minas Gerais, respectivamente, gera-se um óbito. Posto que o NNT seria de 21, segundo os cálculos anteriores e se adotarmos a base de 100 indivíduos beneficiados preconizada por Trewby (2013), teríamos que tratar 2100 pessoas para ter 100 beneficiados. Usando esta base para calcular o *harm to benefit ratio*, (ou relação entre dano e benefício), encontramos o valor de dez (2100/ 213) para o Brasil e 27 (2100/ 77) para o estado de Minas Gerais. Ou seja, este cálculo estima que para cada 100 casos de LM prevenida no Brasil, dez pacientes morrem como consequência do tratamento. Para Minas Gerais, a estimativa é de 27 óbitos para cada 100 indivíduos protegidos da recidiva mucosa pelo tratamento sistêmico com AM. Estes dados, todos com margens favoráveis ao hipotético benefício do AM, buscam nortear a premissa que se propõe discutir: para qualquer opção terapêutica para LC, as metas de cura e prevenção de complicação tardia, não podem suplantiar os riscos e a toxicidade relacionados à terapia.

The risk of patients with New World CL developing ML even many years after the initial episode has been the main argument against local treatment. However, this statement needs re-evaluation and has been questioned by expert panels as well as by the WHO technical report on control of the leishmaniases. The putative benefit of preventing ML should indeed outweigh the risk of toxicity of systemic therapy (BLUM et al., 2012).

Cumpramos ressaltar que estas são reflexões baseadas na compilação da evidência científica e dados epidemiológicos disponíveis, num exercício de comparações teóricas diante da inexistência de medidas diretas e confiáveis descrevendo os desfechos de interesse, óbito e complicação mucosa, observados após diferentes intervenções.

Assim a respeito do estudo aqui apresentado, apesar das limitações aqui discutidas, que incluem não só os aspectos metodológicos, tais como o desenho de estudo não comparativo e o tempo de seguimento ainda curto, mas também a reconhecida heterogeneidade entre as espécies e cepas de *Leishmania*, o que limita sua extrapolação para o cenário nacional, nossos resultados sugerem a viabilidade da abordagem intralesional com AM para tratamento de subgrupo específico de pacientes com LC, com base em sua boa eficácia e tolerância. Estes resultados devem embasar outros estudos, desta vez comparativos, multicêntricos e com outros esquemas posológicos e menor número de infiltrações. Estes trabalhos deverão contribuir para embasar a incorporação em políticas públicas de opção terapêutica para LC cuja principal vantagem é a redução da toxicidade, sem perda de eficácia, o que em última análise, pode concorrer para a redução da morbi-letalidade relacionada a leishmaniose no Brasil.

Por fim, cabe retornar a questão de que a terapia intralesional com AM não pode responder à totalidade dos casos de LC. Entretanto, a proposta central com a qual pretendemos colaborar é a incorporação da infiltração intralesional com AM às engrenagens de uma máquina maior: um algoritmo de terapias, que ainda que sub-ótimas, reduzam os graves efeitos tóxicos hoje documentados com o uso de AM por via parenteral.

Por risco associado aos derivados de antimônio por via parenteral, devem ser entendidos não apenas os muitos óbitos, mas todos os não insignificantes eventos adversos associados a seu uso. Se por um lado, as evidências que suportariam o uso de alternativas terapêuticas são escassas, não se pode perder de vista que, por outro lado, as evidências que nos compelem a rever a primeira linha com AM por via parenteral são fartas. O que tornam prioritários os ensaios clínicos multicêntricos, controlados e randomizados que constituem evidências fortes capazes de promover mudanças nas recomendações terapêuticas para LC no país.

7 CONCLUSÃO

- 1- Terapia de casos selecionados de LC com infiltração intralesional de AM apresenta taxa de cura não inferior à descrita com a terapia sistêmica com AM;
- 2- A maior parte dos eventos adversos relacionados com a abordagem intralesional com AM é de natureza local e intensidade leve;
- 3- Alterações laboratoriais referentes aos sistemas cardíaco, hepático e pancreático foram infrequentes com a terapia intralesional com AM, e não acompanhadas por manifestação clínica de toxicidade;
- 4- Reações de hipersensibilidade podem ocorrer com uso do tratamento intralesional com AM e, embora infrequentes, podem gerar repercussão sistêmica que exigem a interrupção do tratamento.

8 REFERÊNCIAS

AKHOUNDI M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. PLoS Negl Trop Dis (2016)

ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS One, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.

AL- SALEM W, Pigott DM, Subramaniam K, Haines LR, Kelly-Hope L, Molyneux DH, *et al.* Cutaneous leishmaniasis and conflict in Syria [letter]. Emerg Infect Dis. 2016 May

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2016; MANUAL PARA NOTIFICAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS E MONITORAMENTO DE SEGURANÇA EM ENSAIOS CLÍNICOS Gerência Geral de Medicamentos – GGMed Coordenação de Pesquisa Clínica em Medicamentos e Produtos Biológicos – COPEC. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/manual/ea_medicamento_profissional.pdf

ARONSON *et al.* (2016) - Naomi Aronson,¹ Barbara L. Herwaldt, Michael Libman, Richard Pearson, Rogelio Lopez-Velez, Peter Weina, Edgar M. Carvalho, Moshe Ephros, Selma Jeronimo, and Alan Magill - Clinical Infectious Diseases 2016 - Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH)

AZEREDO-COUTINHO, R. B. G. *et al.* Sensitivity of *Leishmania braziliensis* promastigotes to meglumine antimoniate (glucantime) is higher than that of other *Leishmania* species and correlates with response to therapy in American tegumentary leishmaniasis. The Journal of parasitology, v. 93, n. 3, p. 688–693, jun. 2007.

AZEREDO-COUTINHO, R. B. G. *et al.* Intestinal helminth coinfection is associated with mucosal lesions and poor response to therapy in American tegumentary leishmaniasis. *Acta Tropica*, v. 154, p. 42–49, fev. 2016.

BARRIOS, L. A. *et al.* Intralesional glucantime in *Leishmania braziliensis* infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 80, n. 1, p. 173–174, 1986.

BENSOUASSAN Abedelmajeed Nasereddin, Flory Jonas, Lionel F. Schnur, and Charles L. Jaffe - *J Clin Microbiol.* 2006 - Comparison of PCR Assays for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis.

BLUM, J. *et al.* Local or systemic treatment for New World cutaneous leishmaniasis? Re-evaluating the evidence for the risk of mucosal leishmaniasis. *International Health*, v. 4, n. 3, p. 153–163, set. 2012.

BLUM, J. *et al.* LeishMan recommendations for treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis in travelers, 2014. *Journal of Travel Medicine*, v. 21, n. 2, p. 116–129, abr. 2014.

BRASILa, SAÚDE, M. DA S. (BR) DSECRETARIA DE V. EM. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana. [s.l.] Ministério da Saúde Brasília, 2017. F. N. DE S. V. EPIDEMIOLÓGICA, Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana. [s.l.] Ministério da Saúde, 2000. ;

BRASILb - CONITEC- Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS, Julho de 2016, Proposta de elaboração de Protocolo Clínico d Diretrizes Terapêuticas (PCDT), Escopo Leishmaniose Tegumentar

BRASILc - SINAN/SVS/MS 2016 - Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde Volume 47 N° 34 - Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 37, 2016

BRASILd - CONITEC- Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS, 2016, consulta pública para incorporação da miltefosina, relatório de número 40.

BRASILE - CONITEC- Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS, 2015, Pentoxifilina no tratamento da Leishmaniose tegumentar mucosa, relatório de número 199.

BRASILf - DATASUS - <http://datasus.saude.gov.br>, acesso em agosto de 2015

BRITO, G. *et al.* Clinical and immunological outcome in cutaneous leishmaniasis patients treated with pentoxifylline. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 90, n. 4, p. 617–620, abr. 2014.

BRITO, N. C. *et al.*, - Nayara Castelano Brito, Ana Rabello, Gláucia Fernandes Cota - Efficacy of pentavalent antimoniate intralesional infiltration for cutaneous leishmaniasis therapy: a systematic review submetido a Plos One, 2017

CAMPOS Oliveira M, *et al.* Óbito Em Caso De Leishmaniose Cutâneomucosa Após O Uso De Antimonial Pentavalente. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(3):258–60.

CANTANHÊDE LM, da Silva Júnior CF, Ito MM, Felipin KP, Nicolete R, Salcedo JMV, *et al.* Further Evidence of an Association between the Presence of Leishmania RNAVirus 1 and the Mucosal Manifestations in Tegumentary Leishmaniasis Patients. *PLoS Negl Trop Dis* 9(9): e0004079, 2015.

CARVAJAL López, *et al.* *BMC Infectious Diseases* (2016) - Efficacy of cryotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis: meta-analyses of clinical trials

CARDONA ARIAS JA, Vélez ID, López- Carvajal L (2015) Efficacy of Thermoherapy to Treat Cutaneous Leishmaniasis: A Meta-Analysis of

Controlled Clinical Trials. PLoS ONE 10(5):e0122569.
doi:10.1371/journal.pone.012256

CHULAY, J. D., et al. (1988). "Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate or meglumine antimoniate." *Trans R Soc Trop Med Hyg* 82(1): 69-72

COELHO, D. R. *et al.* Tissue distribution of residual antimony in rats treated with multiple doses of meglumine antimoniate. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 109, n. 4, p. 420–427, jul. 2014.

COSTA *et al.*, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* mar-abr, 2003. Óbito durante tratamento da leishmaniose tegumentar americana com stibogluconato de sódio bp 88â (shandong xinhua)

COTA, G. F. *et al.* The Cure Rate after Placebo or No Therapy in American Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS one*, v. 11, n. 2, p. e0149697, 2016.

CHRUSCIAK-TALHARI A, Dietze R, Chrusciak Talhari C, da Silva RM, Gadelha Yamashita EP, de Oliveira Penna G, Lima Machado PR, Talhari S. *Am J Trop Med Hyg.* 2011 Feb;84(2):255-60. Randomized controlled clinical trial to assess efficacy and safety of miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis* in Manaus, Brazil.

DAIDS November 2014. Division of AIDS, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. Table for Grading the Severity of Adult and Pediatric Adverse Events, Version 2.0.

DA SILVA Rosiana Estéfane da Silva¹, Janaina Pina de Carvalho¹, Dario Brock Ramalho¹, Maria Camilo Senna¹, Hugo Silva Assis Moreira¹, Ana Rabello¹, Erika Cota² & Gláucia Cota - Validation of the antimony intralesional infiltration technique for cutaneous leishmaniasis treatment - ^{submetido} ao Mem Inst Osw Cruz, 2017

D'AGOSTINO, R. B.; MASSARO, J. M.; SULLIVAN, L. M. Non-inferiority trials: design concepts and issues - the encounters of academic consultants in statistics. *Statistics in Medicine*, v. 22, n. 2, p. 169–186, 30 jan. 2003.

DE OLIVEIRA-NETO, M. P. *et al.* American tegumentary leishmaniasis (ATL) in Rio de Janeiro State, Brazil: main clinical and epidemiologic characteristics. *International journal of dermatology*, v. 39, n. 7, p. 506–514, jul. 2000.

DE OLIVEIRA-NETO, M. P.; MATTOS, M. DA S. An alternative antimonial schedule to be used in cutaneous leishmaniasis when high doses of antimony are undesirable. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 4, p. 323–326, ago. 2006.

DE MORAIS-TEIXEIRA, E. *et al.* In vitro interaction between paromomycin sulphate and four drugs with leishmanicidal activity against three New World *Leishmania* species. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 69, n. 1, p. 150–154, jan. 2014.

DE VRIES, H. J. C.; REEDIJK, S. H.; SCHALLIG, H. D. F. H. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *American Journal of Clinical Dermatology*, v. 16, n. 2, p. 99–109, abr. 2015.

DE VRIES, Henry J. C., Sophia H. Reedijk, and Henk D. F. H. Schallig. "Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management." *American Journal of Clinical Dermatology* Jan. 2017.

DUPERRAT, B. *et al.* [Pluri-focal cutaneous leishmaniasis treated with intralesional glucantime]. *Bulletin de la Societe francaise de dermatologie et de syphiligraphie*, v. 73, n. 2, p. 219–220, abr. 1966.

ESPINOSA *et al.*, *Leishmania* OligoC-TesT as a simple, Rapid, and standardized tool for molecular diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Peru, *Journal of Clinical Microbiology*, August 2009

FDA, (United States Food and Drug Administration) 2015 - Drug Safety Communication: FDA warns of serious slowing of the heart rate when antiarrhythmic drug amiodarone is used with hepatitis C treatments containing sofosbuvir (Harvoni) or Sovaldi in combination with another Direct Acting Antiviral drug.

FRÉZARD, F.; Demicheli, C.; Ribeiro, R.R. Pentavalent Antimonials: New Perspectives for Old Drugs. *Molecules* 2009, *14*, 2317-2336.

FRAIHA NETO, H. O centenário de nascimento de Gaspar Vianna. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 19, n. 2, p. 111–113, 1986.

FRIEDRICH, K. *et al.* Disposition of antimony in rhesus monkeys infected with *Leishmania braziliensis* and treated with meglumine antimoniate. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, v. 75, n. 2, p. 63–75, 2012.

GADELHA, A. DOS R. *et al.* Tratamento da leishmaniose tegumentar americana com injeções intralesionais de n-metil-glucamina. *An. bras. dermatol*, v. 65, n. 4, p. 201–3, ago. 1990.

GOMES A. H, Armelin IM, Menon SZ, Pereira-Chioccia VL. *Exp Parasitol.* 2008 Jul;119(3):319-24. *Leishmania (V.) braziliensis*: detection by PCR in biopsies from patients with cutaneous leishmaniasis.

GONZALEZ U, Pinart M, Rengifo-Pardo M, Macaya A, Alvar J, *et al.* Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD004834.

GOODWIN LG. Commentary. In: *Trypanosomiasis and Leishmaniasis*. Ciba Foundation Symposium 20. Elsevier, North Holland, Amsterdam, p. 331, 1974.

GONÇALVES, R. V. Evidências clínicas e imunológicas da eficácia do tratamento da leishmaniose cutânea com baixas doses de antimonial pentavalente na manutenção de cura por longo tempo. IOC – FIOCRUZ 2014

GONZALEZ U, Pinart M, Reveiz L, Alvar J. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 4. Art. No.: CD005067. DOI: 10.1002/14651858.CD005067.pub3

GONZÁLEZ, U. *et al.* Designing and reporting clinical trials on treatments for cutaneous leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 51, n. 4, p. 409–419, 15 ago. 2010.

GRIMALDI, G. *et al.* Comparative efficacies of two antimony regimens to treat *Leishmania braziliensis*-induced cutaneous Leishmaniasis in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 1, p. 502–505, jan. 2010.

HARTLEY, M.-A. *et al.* *Leishmania* RNA virus: when the host pays the toll. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 2, p. 99, 2012.

HAJLAOUI *et al.*, 2007 Réaction à l'antimoniote de méglumine (Glucantime®) d'évolution fatale lors du traitement d'une leishmaniose cutanée

HERWALDT, Seminar Leishmaniasis, THE LANCET • Vol 354 • October 2, 1999

HOAGLAND, B. R. DE S. Avaliação da resposta terapêutica de 272 pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana tratados com baixas doses de antimônio pentavalente. Dissertação IPEC FIOCRUZ 2006.

HODIAMONT, C. J. *et al.* Species-directed therapy for leishmaniasis in returning travellers: a comprehensive guide. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 8, n. 5, p. e2832, may 2014.

HOSSEINZADEH *et al.*, Use of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis: a comparison with the conventional scraping method

ITO, M. M. *et al.* Correlation between presence of *Leishmania* RNA virus 1 and clinical characteristics of nasal mucosal leishmaniosis. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 81, n. 5, p. 533–540, out. 2015.

IVES *et al.*, *Leishmania* RNA Virus Controls the Severity of Mucocutaneous Leishmaniasis, *Science* 331, 775 (2011). DOI: 10.1126/science.1199326

KATO, K. C. *et al.* Hepatotoxicity of pentavalent antimonial drug: possible role of residual Sb(III) and protective effect of ascorbic acid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 58, n. 1, p. 481–488, 2014.

KHRAIWESH, M. *et al.* Antileishmanial Activity of Compounds Derived from the Medicines for Malaria Venture Open Access Box Against Intracellular *Leishmania* major Amastigotes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 94, n. 2, p. 340–347, 3 fev. 2016.

KELLUM, R. E. Intralesional injection of sodium stibogluconate by dermal pressure-jet instrument. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 17, n. 4, out. 1987.

KIM DH, Chung HJ, Bleys J, Ghohestani RF (2009) Is Paromomycin an Effective and Safe Treatment against Cutaneous Leishmaniasis? A Meta-Analysis of 14 Randomized Controlled Trials. *PLoS Negl Trop Dis* 3(2): e381. doi:10.1371/journal.pntd.0000381

LOKE, Y. K. *et al.* Systematic reviews of adverse effects: framework for a structured approach. *BMC medical research methodology*, v. 7, p. 32, 2007.

LLANOS-CUENTAS Alejandro, *Clinical Infectious Diseases* 2008, Clinical and Parasite Species Risk Factor for Pentavalent Antimonial Treatment Failure in Cutaneous Leishmaniasis in Peru, Risk Factors for CL Treatment Failure.

LYRA MR, Passos SRL, Pimentel MIF, Bedoya-Pacheco SJ, Valete-Rosalino CM, Vasconcellos ECF, Antonio LF, Saheki MN, Salgueiro MM, Santos GPL, Ribeiro MN, Conceição-Silva F, Madeira MF, Silva JLN, Fagundes A, Schubach AO. Pancreatic toxicity as an adverse effect induced by meglumine antimoniate therapy in a clinical trial for cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2016;58:68.

MACEDO, Diego Henrique Fagundes. Prospecção de LRV1 em *Leishmania braziliensis* do estado de Minas Gerais. 2015. 35 p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Concentração Biologia Celular e Molecular) - Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas René Rachou. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. 2015

MACHADO PR, Ampuero J, Guimarães LH, Villasboas L, Rocha AT, Schriefer A, Sousa RS, Talhari A, Penna G, Carvalho EM. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Dec 21;4(12):e912. doi: 10.1371/journal.pntd.0000912. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial.

MARSDEN, P. D. Pentavalent antimonials: old drugs for new diseases. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 18, n. 3, p. 187–198, set. 1985.

MINAS GERAIS - SVE - Superintendência de Vigilância Epidemiológica - Dados do sistema SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), Abril/2016.

MORIZOT, G. *et al.* Travelers with cutaneous leishmaniasis cured without systemic therapy. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 57, n. 3, p. 370–380, ago. 2013.

NETTO *et al.*, Long-term followup of patients with *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* infection and treated with Glucantime. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990

NEVES, D. B. DA J.; CALDAS, E. D.; SAMPAIO, R. N. R. Antimony in plasma and skin of patients with cutaneous leishmaniasis--relationship with side effects after treatment with meglumine antimoniate. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, v. 14, n. 12, p. 1515–1522, dez. 2009.

OLIVEIRA, L. F. *et al.* Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. *Acta tropica*, v. 118, n. 2, maio 2011.

OLIVEIRA-NETO, M. P. *et al.* Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil--an area of *Leishmania* (V.) *braziliensis* transmission. *International journal of dermatology*, v. 36, n. 6, p. 463–468, jun. 1997a.

OLIVEIRA-NETO, M. P. *et al.* A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 57, n. 6, p. 651–655, dez. 1997b.

OLIVEIRA, W. N. *et al.* (2015), The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of human tegumentary leishmaniasis *Cytokine*. 2015 April

OLLIARO, P. *et al.* Methodology of clinical trials aimed at assessing interventions for cutaneous leishmaniasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 7, n. 3, p. e2130, 2013.

OMS 2010. Organização Mundial de Saúde - Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26, March 2010.

OPAS OMSa. Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento, Washington, DC 2013.

OPAS OMSb. Organización Panamericana de la Salud- Julio de 2016. Informe Leishmaniasis N° 4 - Informe Epidemiológico de las Américas

PASSOS, V. M. *et al.* *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* is the predominant species infecting patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Southeast Brazil. *Acta Tropica*, v. 72, n. 3, p. 251–258, 30 abr. 1999.

PEREIRA, E. F., Thomaz-Soccol V, Lima HC, Thomaz-Soccol A, de Castro EA, Mulinari-Brenner F, Queiroz-Telles F, Luz E. *Exp Dermatol.* 2008 Dec;17(12):1024-30. Molecular diagnosis of leishmaniasis in the Paraná state of southern Brazil.

PRATES FV, Dourado ME, Silva SC, Schriefer A, Guimarães LH, Brito MD, Almeida J, Carvalho EM, Machado PR. *Clin Infect Dis.* 2017 Jan 1;64(1):67-71. Epub 2016 Nov 1. Fluconazole in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis*: A Randomized Controlled Trial.

RAMIREZ JR, Agudelo S, Muskus C, 2000. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Colombia: the sampling site within lesions influences the sensitivity of parasitological diagnosis. *J Clin Microbiol* 38: 3768–3773. Kar K. Serodiagnosis of leishmaniasis. *Crit Rev Microbiol.* 1995

REVEIZ L, Maia-Elkhoury ANS, Nicholls RS, Sierra Romero GA, Yadon ZE *PLoS ONE* (2013), Interventions for American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review Update.

SATOW, Marcela M. *et al.* . APPLICABILITY OF kDNA-PCR FOR ROUTINE DIAGNOSIS OF AMERICAN TEGUMENTARY LEISHMANIASIS IN A TERTIARY REFERENCE HOSPITAL. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo* , v. 55, n. 6, p. 393-399, Dec. 2013 .

SCHUMI, J.; WITTES, J. T. Through the looking glass: understanding non-inferiority. *Trials*, v. 12, p. 106, 2011.

SILVA, AF. A Reação Intradérmica de Montenegro na clínica e na epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar. Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado]
Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde, Vigilância Sanitária; 2007.

SILVA R E, Toledo A , Senna M C, Rabello A, Cota G - Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 111(8): 512-516, August 2016

SINGH OP, Sundar S. Immunotherapy and Targeted Therapies in Treatment of Visceral Leishmaniasis: Current Status and Future Prospects. *Frontiers in Immunology*. 2014 ;5:296. doi:10.3389/fimmu.2014.00296.

SOLOMON M, Pavlotzky F, Barzilai A, Schwartz E. - Feb;68(2):284-9. doi: 10.1016/j.jaad.2012.06.014. Epub 2012 Aug 1. *J Am Acad Dermatol*. 2013
Liposomal amphotericin B in comparison to sodium stibogluconate for *Leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis in travelers.

SOTO Jaime, David Paz, Daniela Rivero, Paula Soto, Jorge Quispe, Julia Toledo, and Jonathan Berman Intralesional Pentamidine: A Novel Therapy for Single Lesions of Bolivian Cutaneous Leishmaniasis *Am J Trop Med Hyg* 2016 94:852-856; Published online February 22, 2016

SOTO, J. *et al.* Intralesional antimony for single lesions of bolivian cutaneous leishmaniasis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 56, n. 9, p. 1255–1260, maio 2013.

SUNDAR Shyam, Jaya Chakravarty - *Expert Opin Pharmacother*. 2015 February; 16(2): 237–252. doi:10.1517/14656566.2015.973850 An Update on Pharmacotherapy for Leishmaniasis

TUON, F. F. *et al.* Treatment of New World cutaneous leishmaniasis--a systematic review with a meta-analysis. *International journal of dermatology*, v. 47, n. 2, p. 109–124, fev. 2008.

UMC OMS 2012 Organização Mundial de Saúde; WHO Programme for International Drug Monitoring ; Uppsala Monitoring Center , January 2012

VALENCIA Cristian *et al* - *PLoS Negl Trop Dis.* 2012 Jun; 6(6): e1656. Prediction Score for Antimony Treatment Failure in Patients with Ulcerative Leishmaniasis Lesions

VAN GRIEVSEN J, Gadisa E, Aseffa A, Hailu A, Beshah AM, Diro E *PLoS Negl Trop Dis* (2016) Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania aethiopia* : A Systematic Review.

VAN THIEL, P. P. A. M. *et al.* Cutaneous leishmaniasis in three Dutch military cohorts following jungle training in Belize. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 9, n. 3, p. 153–160, maio 2011.

VASCONCELLOS, E. DE C. F. E. *et al.* Intralesional meglumine antimoniate for treatment of cutaneous leishmaniasis patients with contraindication to systemic therapy from Rio de Janeiro (2000 to 2006). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 87, n. 2, p. 257–260, ago. 2012.

VIANNA G. Tratamento da leishmaniose tegumentar por injeções intravenosas de tártaro emético. *Ann. 7th Cong. Bras. Med. Cirurg.* 4:426 –428. 1912.

WHO. Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents: recommendations for a public health approach, 2016 revision. Geneva: WHO; 2010

YARDLEY, V. *et al.* American tegumentary leishmaniasis: Is antimonial treatment outcome related to parasite drug susceptibility? *The Journal of Infectious Diseases*, v. 194, n. 8, p. 1168–1175, 15 out. 2006.

ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____,
fui convidado a participar da pesquisa **Estudo clínico para avaliação da eficácia e segurança do uso intralesional de antimoniato de meglumina no tratamento da leishmaniose cutânea localizada.**

Leishmaniose cutânea é uma doença causada por um parasita chamado *Leishmania*, transmitido pela picada de um inseto e caracterizada por feridas ulceradas na pele. Atualmente, o Ministério da Saúde do Brasil recomenda como primeira escolha para o tratamento desta doença o GLUCANTIME, em doses diárias, por via endovenosa ou intramuscular, pelo mínimo de 20 dias consecutivos. A taxa de cura deste tratamento está em torno de 75% e o maior problema atualmente são os efeitos colaterais relacionados à droga, algumas vezes graves como arritmias cardíacas e pancreatite. O GLUCANTIME é contra indicado para mulheres grávidas e pessoas com problemas graves no coração e rins.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar uma nova modalidade de tratamento para a doença, utilizando a mesma medicação já recomendada pelo Ministério da Saúde do Brasil (GLUCANTIME), entretanto em injeções aplicadas diretamente na borda da lesão, uma vez por semana, até cicatrização da ferida e, por no máximo, 8 semanas. Com a administração da medicação diretamente na ferida, espera-se obter o mesmo efeito terapêutico e menos efeitos colaterais, já que a medicação não estará sendo administrada na circulação sanguínea diretamente. Para avaliar se o princípio ativo do GLUCANTIME é absorvido pelo organismo e em qual quantidade, faremos uma dosagem da medicação em amostras de sangue coletadas no dia da primeira e da 4ª infiltração da medicação, antes da aplicação da medicação e depois de 30 minutos, 1; 2; 3; 5; 8 e 24 horas. Antes do tratamento, todas as mulheres com menos de 50 anos deverão realizar um teste de sangue para a avaliação da presença de gravidez. Todos que concordarem, poderão ainda realizar a sorologia para o vírus HIV, embora a sua participação neste estudo não será negada, mesmo se este exame vier com resultado positivo. Também monitorizaremos seus exames de sangue (hemograma, glicemia, exames que avaliam a função dos rins, fígado e pâncreas) e o eletrocardiograma toda semana. Durante todo o tratamento, da mesma forma que feito com pacientes que recebem o tratamento convencional com GLUCANTIME pela veia ou músculo, a ocorrência de alterações nos seus exames que signifiquem risco a sua saúde será informada a você e o tratamento interrompido. Com 45 dias do início do tratamento, caso sua ferida não tenha alcançado o mínimo de 50% de redução em seu maior diâmetro, nós interromperemos o tratamento por infiltração intralesional e lhe ofereceremos o tratamento convencional por infusão diária de GLUCANTIME, por via venosa ou muscular. Para participar da pesquisa, você precisará ser avaliado por um médico da nossa equipe no início do acompanhamento e depois a cada semana pelos próximos 60 dias. Depois, são programadas avaliações médicas com 90, 180 e 360 dias após início do tratamento. Para o diagnóstico, da mesma forma do que é rotineiramente realizado em nosso serviço, após anestesia local, um pequeno fragmento da lesão será coletado (biópsia), além de aspirada a secreção diretamente da borda da lesão para a pesquisa e cultivo do parasita. Um exame chamado intradermoreação de Montenegro (IDRM) também será realizado, trata-se de uma pequena infiltração de uma solução na sua pele para a avaliação do aparecimento de reação após 48 horas. Os riscos da realização destes procedimentos são pequenos. Você poderá sentir dor leve momentânea no local da punção para coleta de sangue e durante a anestesia, antes da biópsia e aspirado da lesão. Caso apresente qualquer problema, você será avaliado por um médico da pesquisa e receberá todo o atendimento necessário. Em qualquer momento, você poderá decidir sair da pesquisa. Caso saia, não haverá nenhuma diferença no acompanhamento que você está recebendo. Você não receberá nenhuma gratificação para participar da pesquisa. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais. Somente você e nós, do grupo da pesquisa, teremos acesso às informações. Os dados não serão divulgados de forma a identificá-lo. Você receberá uma cópia deste termo, onde consta o telefone do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa René Rachou e do Hospital Eduardo de Menezes. Você pode esclarecer suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da minha participação e concordo em participar

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

Pesquisadores:

Dario Brock Ramalho – Tel: (31) 3328-5055 Hospital Eduardo de Menezes – Av Dr Cristiano Rezende, 2213 - CEP 30.622-20 Bairro Bom Sucesso, Belo Horizonte

Gláucia Cota – (31) 3349 7708 Laboratório de Pesquisas Clínicas- - Av. Augusto de Lima, 1715 – Barro Preto – Belo Horizonte. Cep:30190-002

Comitês de Ética

Centro de Pesquisa René Rachou: (31) 3349 7825

CEP Hospital Eduardo de Menezes: (31) 3328-5084

ANEXO 2 – Procedimento Operacional Padrão para a realização da infiltração intralesional de AM

Material necessário:

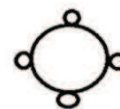
- seringa de 5 ml cheia de lidocaina a 2%, acoplada à agulha de insulina;
- seringa de 5 a 10 ml cheia com Glucantime acoplada a agulha 25x0,7G;
- luvas estéreis;
- solução antiséptica e salina para antissepsia da área da lesão;

Conhecimento necessário:

- Saber o volume máximo de Glucantime permitido por dia;
- A saturação da lesão é o objetivo do procedimento;
- Saturação é definida como inchaço da lesão;

Técnica:

1. Após a antissepsia, infiltrar a seringa de 5 ml contendo a lidocaina a 2% acoplada à agulha de insulina para a formação dos vários botões anestésicos, ou quantos forem consideradas necessárias de acordo com a forma da lesão. Para uma lesão oval típica, sugere-se que os botões anestésicos sejam realizados nos quatro pontos cardinais de lesão (como mostrado). A punção ocorre na pele íntegra adjacente à lesão, com inclinação de 30° C.
 2. Aspirar todo o conteúdo da ampola Glucantime utilizando uma seringa de 5 ou 10 ml acoplada a uma agulha 25x0,7G;
 3. Infiltrar Glucantime usando a seguinte técnica: introduzir a agulha do botão anestésico em direção ao centro da lesão, tangente à sua base e mantendo o bisel voltado para cima;
 4. Retroceder a agulha em direção à borda enquanto infiltra suavemente o glucantime;
 5. Repetir os passos 2 e 3 em todos os botões anestésicos;
 6. Avaliar se houve saturação de toda a lesão, incluindo a base / fundo e bordas;
 7. No caso de saturação de toda a lesão, terminar o procedimento e fazer o curativo;
 8. No caso de áreas não saturadas na lesão, proceder uma ou mais infiltrações novas a partir do fundo anestésico mais próximo até a saturação ser obtida, considerando a dose máxima de Glucantime permitida por dia;
- NOTA 1: Se o volume necessário exceder 5 ml (1 ampola), proceder novamente a aspiração completa de um conteúdo de nova ampola de Glucantime conforme descrito no item 2;



ANEXO 3 – Ficha de inclusão no estudo



FICHA DE INCLUSÃO

Data do recrutamento ____/____/____

Nome _____

DN ____/____/____ idade _____

Telefone (____) _____ Número prontuário _____

Sexo () 0 masculino 1- feminino Procedência () 0-BH/RM 1-interior MG 2-outros estados 3-outros

Escolaridade () 0-analfabeto 1-1º grau completo/incompleto 2- 2º grau completo/incompleto 3- 3º grau completo/incompleto

Número de lesões _____ tempo início lesões em semanas _____

IDRM () 0-negativo 1-positivo 8-não realizada IDRM diâmetro _____mm X _____ mm

Imprint () 0-negativo 1-positivo 8-não realizada 9-inconclusivo (qualidade ruim do esfregaço)

Cultura () 0-negativo 1-positivo 8-não realizada 9-inconclusivo (contaminação)

PCR () 0-negativo 1-positivo 8-não realizada 9-inconclusivo (problemas técnicos com o exame)

AP () 0-indeterminado 1-diagnóstico (presença de leishmania) 2- sugestivo (infiltrado sugestivo mas ausência de amastigostas) 3- incompatível (qdo confirmou outro dx) 8- não realizado

Exames de ____/____/____

Hg	leuc	plaq	creat	Ureia	BT/BD	TGO	TGP	FA	Amilase

ECG de ____/____/____

Ritmo	FC	PRI	QTc	QRS duração	Seg ST (infra ou supra)	T morfologia (sim ou assim)	T amplitude Em V3	T polaridade (posit ou neg)

Cada 1mm= 0,04 s

Comorbidades (detalhar se necessário) 0- não 1-sim

- | | | |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------|
| () HAS | () nefropatia | () d. psiquiatrica |
| () DM | () pneumopatia | () colagenose |
| () asma | () alcoolismo (>30g alcool/d) | () d. neurológica |
| () cardiopatia | () tabagismo | () uso drogas ilícitas |
| () hepatopatia | () uso corticóide(> 30 mg pred > 7d) | () HIV |



Medicações em uso:

medicamento	Dose unitária mg	Intervalo	Tempo de uso

Lesão 1:

Morfologia da lesão () 0-úlceras (ao menos parte da lesão não é coberta por epiderme, mesmo se coberta por crosta)
 1- papula (lesão totalmente coberta pela epiderme e maior diâmetro menor que 1 cm) 3-nódulo (pápula maior que 1 cm em seu maior diâmetro) 4-placa (infiltração com 1cm ou mais de diâmetro)



Localização lesão () 0-cabeça 1-MMSS 2- MMII
 3- tronco

Lesão 2:

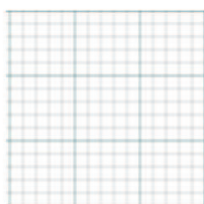
Morfologia da lesão () 0-úlceras (ao menos parte da lesão não é coberta por epiderme, mesmo se coberta por crosta)
 1- papula (lesão totalmente coberta pela epiderme e maior diâmetro menor que 1 cm) 3-nódulo (pápula maior que 1 cm em seu maior diâmetro) 4-placa (infiltração com 1cm ou mais de diâmetro)



Localização lesão () 0-cabeça 1-MMSS 2- MMII
 3- tronco

Lesão 3:

Morfologia da lesão () 0-úlceras (ao menos parte da lesão não é coberta por epiderme, mesmo se coberta por crosta)
 1- papula (lesão totalmente coberta pela epiderme e maior diâmetro menor que 1 cm) 3-nódulo (pápula maior que 1 cm em seu maior diâmetro) 4-placa (infiltração com 1cm ou mais de diâmetro)



Localização lesão () 0-cabeça 1-MMSS 2- MMII
 3- tronco



D1 (primeira infiltração) _____/_____/_____

Avaliação da lesão	Lesão 1	Lesão 2	Lesão 3
Presença de úlcera (0-não 1-sim) Medir borda interna da úlcera, se existente	() ____ x _____ mm Área: _____	() ____ x _____ mm Área: _____	() ____ x _____ mm Área: _____
Presença de infiltração (0-não 1-sim)	() ____ x _____ mm Área: _____	() ____ x _____ mm Área: _____	() ____ x _____ mm Área: _____
Volume calculado 0,008 por mm ²			

Volume máximo: $\text{peso} \times 20 =$ _____ ml
81

	Lesão 1 (0-não 1-sim)		Lesão 2 (0-não 1-sim)		Lesão 3 (0-não 1-sim)	
Volume final infiltrado						
Situação da lesão ao final da infiltração (0-não 1-sim)	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()

Peso: _____

PA: _____ x _____ FC _____

AUSCULTA CARDÍACA: _____

ANEXO 4- Ficha de monitoramento clínico laboratorial (de D7 a D35)



FICHA DE SEGUIMENTO

Visita D ____ ± 3 dias ____/____/____ (entre D7 e D35 ± 3 dias)

Avaliação da lesão	Lesão 1	Lesão 2	Lesão 3
Presença de úlcera (0-não 1-sim) Medir borda interna da úlcera, se existente	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____
Presença de infiltração (0-não 1-sim)	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____

Avaliação de EA (0-não 1-sim) (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

Após a última infiltração, na lesão (em uma ou mais), você notou:

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de dor | <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de vermelhidão |
| <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de prurido | <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de sangramento |
| <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de inchaço | <input type="checkbox"/> Aparcimento/piora de secreção |

Desde a última infiltração, você apresentou (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Febre | <input type="checkbox"/> Hiporexia |
| <input type="checkbox"/> Calafrios | <input type="checkbox"/> Lesão difusa de pele ou à distância |
| <input type="checkbox"/> Dor muscular | <input type="checkbox"/> Dor abdominal |
| <input type="checkbox"/> Dor articular | <input type="checkbox"/> Falta de ar |
| <input type="checkbox"/> Artrite | <input type="checkbox"/> Tosse |
| <input type="checkbox"/> Astenia (desânimo) | <input type="checkbox"/> Outro |
| <input type="checkbox"/> Diarreia | |

Evento Adverso	Data Início	Data Término	Gravidade	Relação com o produto sob investigação	Conduta em relação ao tratamento de LV	Tratamento dado para EA	SAE	Resultado
<small>(descreva e numere cada evento adverso)</small>	<small>(DDMM/AA)</small>	<small>(DDMM/AA)</small>	<small>(1) Grau 1 (2) Grau 2 (3) Grau 3 (4) Grau 4</small>	<small>(1) Não relacionado (2) Provável (3) Provável (4) Definitivo</small>	<small>(1) Sem alterações (2) Tratamento interrompido temporariamente (3) Tratamento descontinuado</small>	<small>(1) Sim* (2) Não</small>	<small>(1) Sim (2) Não</small>	<small>(1) Resolvido (2) Recuperado com sequelas (3) Contínuo (4) Morte (5) Fim do seguimento</small>

	Lesão 1 (o-não 1-sim)		Lesão 2 (o-não 1-sim)		Lesão 3 (o-não 1-sim)	
Volume final infiltrado						
Situação da lesão ao final da infiltração (o-não 1-sim)	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()

Exames de ____/____/____

Hg	leuc	plaq	creat	Ureia	BT/BD	TGO	TGP	FA	Amilase

ECG de ____/____/____

Ritmo	FC	PRi	QTc	QRS duração	Seg ST (infra ou supra)	T morfologia (sim ou assim)	T amplitude	T polaridade (posit ou neg)

Cada 1mm= 0.04 s

ANEXO 5- Ficha de monitoramento clínico laboratorial (de D42 a D49)



FICHA DE SEGUIMENTO

Visita D ____ ± 3 dias ____/____/____ (entre D42 e D49± 3 dias)

Avaliação da lesão	Lesão 1	Lesão 2	Lesão 3
Presença de úlcera (0-não 1-sim) Medir borda interna da úlcera, se existente	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____
Presença de infiltração (0-não 1-sim)	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____

Lesão nova () se sim: sai do estudo e é oferecido resgate (0-não 1-sim)

Falência () se tamanho > 50% do inicial (uma ou mais lesões): se sim: sai do estudo e é oferecido resgate

Cura () nenhuma lesão nova, epitelização 100%, ausência de infiltração

Avaliação de EA (0-não 1-sim) (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

Após a última infiltração, na lesão (em uma ou mais), você notou:

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------------|
| () Aparecimento/piora de dor | () Aparecimento/piora de vermelhidão |
| () Aparecimento/piora de prurido | () Aparecimento/piora de sangramento |
| () Aparecimento/piora de inchaço | () Aparecimento/piora de secreção |

Desde a última infiltração, você apresentou (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

- | | |
|------------------------|---|
| () Febre | () Hiporexia |
| () Calafrios | () Lesão difusa de pele ou à distância |
| () Dor muscular | () Dor abdominal |
| () Dor articular | () Falta de ar |
| () Artrite | () Tosse |
| () Astenia (desânimo) | () Outro |
| () Diarreia | |

Evento Adverso <small>(descreva e numere cada evento adverso)</small>	Data Início <small>(DD/MM/AA)</small>	Data Término <small>(DD/MM/AA)</small>	Gravidade <small>(1) Grau 1 (2) Grau 2 (3) Grau 3 (4) Grau 4</small>	Relação com o produto sob investigação <small>(1) Não relacionado (2) Possível (3) Provável (4) Definitivo</small>	Conduta em relação ao tratamento de LV <small>(1) Sem alterações (2) Tratamento interrompido temporariamente (3) Tratamento descontinuado</small>	Tratamento dado para EA <small>(1) Sim* (2) Não</small>	SAE <small>(1) Sim (2) Não</small>	Resultado <small>(1) Resolvido (2) Recuperado com sequelas (3) Contínuo (4) Morto (5) Perda de seguimento</small>

	Lesão 1 (o-não 1-sim)		Lesão 2 (o-não 1-sim)		Lesão 3 (o-não 1-sim)	
Volume final infiltrado						
Situação da lesão ao final da infiltração (o-não 1-sim)	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()	Edema Fundo/centro () Borda ()	Palidez Fundo/centro () Borda ()

Exames de ____/____/____

Hg	leuc	plaq	creat	ureia	BT/BD	TGO	TGP	FA	Amilase

ECG de ____/____/____

Ritmo	FC	PRi	QTc	QRS duração	Seg ST (infra ou supra, normo)	T morfologia (sim ou assim)	T amplitude	T polaridade (posit ou neg)

Cada 1mm= 0.04 s

ANEXO 6- Ficha de monitoramento clínico laboratorial e avaliação de cura (D90)



FICHA DE AVALIAÇÃO DE CURA

Visita D ____ ± ____ dias ____/____/____ (D90, D180 e D360 dias)

Avaliação de EA (0-não 1-sim) (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

Após a última infiltração, na lesão (em uma ou mais), você notou:

- () Aparecimento/piora de dor () Aparecimento/piora de vermelhidão
 () Aparecimento/piora de prurido () Aparecimento/piora de sangramento
 () Aparecimento/piora de inchaço () Aparecimento/piora de secreção

Desde a última infiltração, você apresentou (caracterize os eventos adversos de acordo com quadro abaixo):

- () Febre () Hiporexia
 () Calafrios () Lesão difusa de pele ou à distância
 () Dor muscular () Dor abdominal
 () Dor articular () Falta de ar
 () Artrite () Tosse
 () Astenia (desânimo) () Outro
 () Diarreia

Evento Adverso	Data Início	Data Término	Gravidade	Relação com o produto sob investigação	Conduta em relação ao tratamento de LV	Tratamento dado para EA	SAE	Resultado
<small>(descreva e numere cada evento adverso)</small>	<small>(DDIMMIAA)</small>	<small>(DDIMMIAA)</small>	<small>(1) Grau 1 (2) Grau 2 (3) Grau 3 (4) Grau 4</small>	<small>(1) Não relacionado (2) Possível (3) Provável (4) Definitivo</small>	<small>(1) Sem alterações (2) Tratamento interrompido temporariamente (3) Tratamento descontinuado</small>	<small>(1) Sim* (2) Não</small>	<small>(1) Sim (2) Não</small>	<small>(1) Resolvido (2) Recuperado com sequelas (3) Continua (4) Morte (5) Perda de seguimento</small>

Avaliação da lesão	Lesão 1	Lesão 2	Lesão 3
Presença de úlcera (0-não 1-sim) Medir borda interna da úlcera, se existente	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____
Presença de infiltração (0-não 1-sim)	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____	() ____ x ____ mm Área: _____

Aparecimento de nova lesão () (0-não 1-sim)

quantas lesões novas _____

localização N1 _____ N2 _____ N3 _____

Cura () nenhuma lesão nova, epitelização 100%, ausência de infiltração (0-não 1-sim)

Falência () lesão nova ou de tamanho > 50% do inicial (uma ou mais lesões): se sim, sai do estudo e é oferecido resgate (0-não 1-sim)

ANEXO 7 - Tabelas de classificação da intensidade dos eventos adversos extraídas dos estudos ACTG - “Division of AIDS (DAIDS) - Table for Grading the Severity of Adult and Pediatric Adverse Events Version 2.0 November 2014”

Cardiovascular

PARAMETER	GRADE 1 MILD	GRADE 2 MODERATE	GRADE 3 SEVERE	GRADE 4 POTENTIALLY LIFE- THREATENING
Prolonged PR Interval or AV Block <i>Report only one</i> > 16 years of age	PR interval 0.21 to < 0.25 seconds	PR interval \geq 0.25 seconds <u>OR</u> Type I 2 nd degree AV block	Type II 2 nd degree AV block <u>OR</u> Ventricular pause \geq 3.0 seconds	Complete AV block
\leq 16 years of age	1 st degree AV block (PR interval > normal for age and rate)	Type I 2 nd degree AV block	Type II 2 nd degree AV block <u>OR</u> Ventricular pause \geq 3.0 seconds	Complete AV block
Prolonged QTc Interval²	0.45 to 0.47 seconds	> 0.47 to 0.50 seconds	> 0.50 seconds <u>OR</u> \geq 0.06 seconds above baseline	Life-threatening consequences (e.g., Torsade de pointes, other associated serious ventricular dysrhythmia)
Thrombosis or Embolism <i>Report only one</i>	NA	Symptoms <u>AND</u> No intervention indicated	Symptoms <u>AND</u> Intervention indicated	Life-threatening embolic event (e.g., pulmonary embolism, thrombus)

Cardiovascular

PARAMETER	GRADE 1 MILD	GRADE 2 MODERATE	GRADE 3 SEVERE	GRADE 4 POTENTIALLY LIFE- THREATENING
Prolonged PR Interval or AV Block <i>Report only one</i> > 16 years of age	PR interval 0.21 to < 0.25 seconds	PR interval \geq 0.25 seconds <u>OR</u> Type I 2 nd degree AV block	Type II 2 nd degree AV block <u>OR</u> Ventricular pause \geq 3.0 seconds	Complete AV block
\leq 16 years of age	1 st degree AV block (PR interval > normal for age and rate)	Type I 2 nd degree AV block	Type II 2 nd degree AV block <u>OR</u> Ventricular pause \geq 3.0 seconds	Complete AV block
Prolonged QTc Interval²	0.45 to 0.47 seconds	> 0.47 to 0.50 seconds	> 0.50 seconds <u>OR</u> \geq 0.06 seconds above baseline	Life-threatening consequences (e.g., Torsade de pointes, other associated serious ventricular dysrhythmia)
Thrombosis or Embolism <i>Report only one</i>	NA	Symptoms <u>AND</u> No intervention indicated	Symptoms <u>AND</u> Intervention indicated	Life-threatening embolic event (e.g., pulmonary embolism, thrombus)

Dermatologic

PARAMETER	GRADE 1 MILD	GRADE 2 MODERATE	GRADE 3 SEVERE	GRADE 4 POTENTIALLY LIFE- THREATENING
Alopecia (scalp only)	Detectable by study participant, caregiver, or physician <u>AND</u> Causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Obvious on visual inspection <u>AND</u> Causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	NA	NA
Bruising	Localized to one area	Localized to more than one area	Generalized	NA
Cellulitis	NA	Non-parenteral treatment indicated (e.g., oral antibiotics, antifungals, antivirals)	IV treatment indicated (e.g., IV antibiotics, antifungals, antivirals)	Life-threatening consequences (e.g., sepsis, tissue necrosis)
Hyperpigmentation	Slight or localized causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Marked or generalized causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	NA	NA
Hypopigmentation	Slight or localized causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Marked or generalized causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	NA	NA
Petechiae	Localized to one area	Localized to more than one area	Generalized	NA
Pruritus³ (without skin lesions)	Itching causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Itching causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	Itching causing inability to perform usual social & functional activities	NA
Rash <i>Specify type, if applicable</i>	Localized rash	Diffuse rash <u>OR</u> Target lesions	Diffuse rash <u>AND</u> Vesicles or limited number of bullae or superficial ulcerations of mucous membrane limited to one site	Extensive or generalized bullous lesions <u>OR</u> Ulceration of mucous membrane involving two or more distinct mucosal sites <u>OR</u> Stevens-Johnson syndrome <u>OR</u> Toxic epidermal necrolysis

Site Reactions to Injections and Infusions

PARAMETER	GRADE 1 MILD	GRADE 2 MODERATE	GRADE 3 SEVERE	GRADE 4 POTENTIALLY LIFE- THREATENING
Injection Site Pain or Tenderness <i>Report only one</i>	Pain or tenderness causing no or minimal limitation of use of limb	Pain or tenderness causing greater than minimal limitation of use of limb	Pain or tenderness causing inability to perform usual social & functional activities	Pain or tenderness causing inability to perform basic self-care function <u>OR</u> Hospitalization indicated
Injection Site Erythema or Redness¹³ <i>Report only one</i> <i>> 15 years of age</i>	2.5 to < 5 cm in diameter <u>OR</u> 6.25 to < 25 cm ² surface area <u>AND</u> Symptoms causing no or minimal interference with usual social & functional activities	≥ 5 to < 10 cm in diameter <u>OR</u> ≥ 25 to < 100 cm ² surface area <u>OR</u> Symptoms causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	≥ 10 cm in diameter <u>OR</u> ≥ 100 cm ² surface area <u>OR</u> Ulceration <u>OR</u> Secondary infection <u>OR</u> Phlebitis <u>OR</u> Sterile abscess <u>OR</u> Drainage <u>OR</u> Symptoms causing inability to perform usual social & functional activities	Potentially life-threatening consequences (e.g., abscess, exfoliative dermatitis, necrosis involving dermis or deeper tissue)
<i>≤ 15 years of age</i>	≤ 2.5 cm in diameter	> 2.5 cm in diameter with < 50% surface area of the extremity segment involved (e.g., upper arm or thigh)	≥ 50% surface area of the extremity segment involved (e.g., upper arm or thigh) <u>OR</u> Ulceration <u>OR</u> Secondary infection <u>OR</u> Phlebitis <u>OR</u> Sterile abscess <u>OR</u> Drainage	Potentially life-threatening consequences (e.g., abscess, exfoliative dermatitis, necrosis involving dermis or deeper tissue)
Injection Site Induration or Swelling <i>Report only one</i> <i>> 15 years of age</i>	Same as for Injection Site Erythema or Redness, > 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, > 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, > 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, > 15 years of age
<i>≤ 15 years of age</i>	Same as for Injection Site Erythema or Redness, ≤ 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, ≤ 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, ≤ 15 years of age	Same as for Injection Site Erythema or Redness, ≤ 15 years of age
Injection Site Pruritus	Itching localized to the injection site that is relieved spontaneously or in < 48 hours of treatment	Itching beyond the injection site that is not generalized <u>OR</u> Itching localized to the injection site requiring ≥ 48 hours treatment	Generalized itching causing inability to perform usual social & functional activities	NA

Systemic

PARAMETER	GRADE 1 MILD	GRADE 2 MODERATE	GRADE 3 SEVERE	GRADE 4 POTENTIALLY LIFE- THREATENING
Acute Allergic Reaction	Localized urticaria (wheals) with no medical intervention indicated	Localized urticaria with intervention indicated <u>OR</u> Mild angioedema with no intervention indicated	Generalized urticaria <u>OR</u> Angioedema with intervention indicated <u>OR</u> Symptoms of mild bronchospasm	Acute anaphylaxis <u>OR</u> Life-threatening bronchospasm <u>OR</u> Laryngeal edema
Chills	Symptoms causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Symptoms causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	Symptoms causing inability to perform usual social & functional activities	NA
Cytokine Release Syndrome⁷	Mild signs and symptoms <u>AND</u> Therapy (i.e., antibody infusion) interruption not indicated	Therapy (i.e., antibody infusion) interruption indicated <u>AND</u> Responds promptly to symptomatic treatment <u>OR</u> Prophylactic medications indicated for ≤ 24 hours	Prolonged severe signs and symptoms <u>OR</u> Recurrence of symptoms following initial improvement	Life-threatening consequences (e.g., requiring pressor or ventilator support)
Fatigue or Malaise Report only one	Symptoms causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Symptoms causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	Symptoms causing inability to perform usual social & functional activities	Incapacitating symptoms of fatigue or malaise causing inability to perform basic self-care functions
Fever (non-axillary temperatures only)	38.0 to $< 38.6^{\circ}\text{C}$ or 100.4 to $< 101.5^{\circ}\text{F}$	≥ 38.6 to $< 39.3^{\circ}\text{C}$ or ≥ 101.5 to $< 102.7^{\circ}\text{F}$	≥ 39.3 to $< 40.0^{\circ}\text{C}$ or ≥ 102.7 to $< 104.0^{\circ}\text{F}$	$\geq 40.0^{\circ}\text{C}$ or $\geq 104.0^{\circ}\text{F}$
Pain¹⁰ (not associated with study agent injections and not specified elsewhere) <i>Specify location</i>	Pain causing no or minimal interference with usual social & functional activities	Pain causing greater than minimal interference with usual social & functional activities	Pain causing inability to perform usual social & functional activities	Disabling pain causing inability to perform basic self-care functions <u>OR</u> Hospitalization indicated
Serum Sickness¹¹	Mild signs and symptoms	Moderate signs and symptoms <u>AND</u> Intervention indicated (e.g., antihistamines)	Severe signs and symptoms <u>AND</u> Higher level intervention indicated (e.g., steroids or IV fluids)	Life-threatening consequences (e.g., requiring pressor or ventilator support)

⁷ Definition: A disorder characterized by nausea, headache, tachycardia, hypotension, rash, and/or shortness of breath.

¹⁰ For pain associated with injections or infusions, see the *Site Reactions to Injections and Infusions* section (page 23).

¹¹ Definition: A disorder characterized by fever, arthralgia, myalgia, skin eruptions, lymphadenopathy, marked discomfort, and/or dyspnea.

TABELA PARA A AFERIÇÃO DA GRAVIDADE DOS EVENTOS ADVERSOS EM ADULTOS E CRIANÇAS.
ADAPTADO DO DOCUMENTO: *DIVISION OF AIDS TABLE FOR GRADING THE SEVERITY OF ADULT AND PEDIATRIC ADVERSE EVENTS* PUBLICADO PELO ACTG EM DEZEMBRO DE 2004

LABORATÓRIO				
PARÂMETROS	GRAU 1 LEVE	GRAU 2 MODERADO	GRAU 3 GRAVE	GRAU 4 POTENCIALMENTE LETAL
Diminuição de plaquetas	100.000 – 124.999/mm ³ <i>100.000 x 10⁹ –</i> <i>124.999 x 10⁹/L</i>	50.000 – 99.999/mm ³ <i>50.000 x 10⁹ –</i> <i>99.999 x 10⁹/L</i>	25.000 – 49.999/mm ³ <i>25.000 x 10⁹ –</i> <i>49.999 x 10⁹/L</i>	< 25.000/mm ³ <i>< 25.000 x 10⁹/L</i>
Diminuição da contagem total de leucócitos do sangue periférico	2.000 – 2.500/mm ³ <i>2.000 x 10⁹ –</i> <i>2.500 x 10⁹/L</i>	1.500 – 1.999/mm ³ <i>1.500 x 10⁹ –</i> <i>1.999 x 10⁹/L</i>	1.000 – 1.499/mm ³ <i>1.000 x 10⁹ –</i> <i>1.499 x 10⁹/L</i>	< 1.000/mm ³ <i>< 1.000 x 10⁹/L</i>
Contagem absoluta de neutrófilos				
Adultos e crianças > 7 dias	1.000 – 1.300/mm ³ <i>1.000 x 10⁹ –</i> <i>1.300 x 10⁹/L</i>	750 – 999/mm ³ <i>0.750 x 10⁹ –</i> <i>0.999 x 10⁹/L</i>	500 – 749/mm ³ <i>0.500 x 10⁹ –</i> <i>0.749 x 10⁹/L</i>	< 500/mm ³ <i>< 0.500 x 10⁹/L</i>
Diminuição de fibrinogênio	100 – 200 mg/dL <i>1,00 – 2,00 g/L</i> OU 0,75 – 0,99 x LIN	75 – 99 mg/dL <i>0,75 – 0,99 g/L</i> OU 0,50 – 0,74 x LIN	50 – 74 mg/dL <i>0,50 – 0,74 g/L</i> OU 0,25 – 0,49 x LIN	< 50 mg/dL <i>< 0,50 g/L</i> OU < 0,25 x LIN OU Associação com sangramento evidente
Hemoglobina (Hb)				
Adultos e crianças ≥ 57 dias (POPULAÇÃO SEM INFECÇÃO PELO HIV)	10,0 – 10,9 g/dL <i>1,55 – 1,69 mmol/L</i> OU Qualquer diminuição de 2,5 – 3,4 g/dL <i>0,39 – 0,53 mmol/L</i>	9,0 – 9,9 g/dL <i>1,40 – 1,54 mmol/L</i> OU Qualquer diminuição de 3,5 – 4,4 g/dL <i>0,54 – 0,68 mmol/L</i>	7,0 – 8,9 g/dL <i>1,09 – 1,39 mmol/L</i> OU Qualquer diminuição de ≥ 4,5 g/dL <i>≥ 0,69 mmol/L</i>	< 7,0 g/dL <i>< 1,09 mmol/L</i>
Creatinina	1,1 – 1,3 x LSN [†]	1,4 – 1,8 x LSN [†]	1,9 – 3,4 x LSN [†]	≥ 3,5 x LSN [†]
BIOQUÍMICA <i>As unidades internacionais padronizadas estão em itálico</i>				
Acidose	NA	pH < normal ≥ 7,3	pH < 7,3 sem condições que coloquem em Risco a vida	pH < 7,3 com condições que colocam em risco a vida
Diminuição de Albumina sérica	3,0 g/dL – < LIN <i>30 g/L – < LIN</i>	2,0 – 2,9 g/dL <i>20 – 29 g/L</i>	< 2,0 g/dL <i>< 20 g/L</i>	NA
Fosfatase alcalina	1,25 – 2,5 x LSN [†]	2,6 – 5,0 x LSN [†]	5,1 – 10,0 x LSN [†]	> 10,0 x LSN [†]
Alcalose	NA	pH > normal ≤ 7,5	pH > 7,5 sem condições que coloquem em Risco a vida	pH > 7,5 com condições que colocam em risco a vida
ALT (SGPT)	1,25 – 2,5 x LSN	2,6 – 5,0 x LSN	5,1 – 10,0 x LSN	> 10,0 x LSN
AST (SGOT)	1,25 – 2,5 x LSN	2,6 – 5,0 x LSN	5,1 – 10,0 x LSN	> 10,0 x LSN

ANEXO 8 - Tabelas para avaliação da relação de causalidade entre a intervenção experimental e os eventos adversos, OMS 2017

<i>Categorias*</i>	<i>Crítérios na avaliação de causalidade**</i>
Certa/Definida	<ul style="list-style-type: none"> • Evento ou alteração (anormal) em exame laboratorial com relação temporal plausível em relação à administração da intervenção; • Não pode ser explicado por doença ou outra intervenção, medicamento; • Resposta à interrupção ou retirada plausível (farmacologicamente, patologicamente); • Evento definido farmacologicamente ou fenomenologicamente (i.e. uma desordem objetiva e específica ou um fenómeno farmacologicamente reconhecido); • Reexposição satisfatória, se necessária.
Provável	<ul style="list-style-type: none"> • Evento ou alteração (anormal) em exame laboratorial com relação temporal razoável em relação à administração da intervenção; • Improvável que seja atribuído a uma doença ou outra intervenção, medicamento; • Resposta à interrupção ou retirada clinicamente razoável; • Reexposição não exigida.
Possível	<ul style="list-style-type: none"> • Evento ou alteração (anormal) em exame laboratorial com relação temporal razoável em relação à administração da intervenção; • Pode também ser explicado por doença ou outras intervenções, medicamentos; • Informação sobre a retirada ou interrupção do tratamento pode estar faltando ou obscura.
Improvável	<ul style="list-style-type: none"> • Evento ou alteração (anormal) em exame laboratorial que em relação ao momento de administração da intervenção faz uma relação improvável (mas não impossível); • Doença ou outros tratamentos subsidiam explicações plausíveis.
Condicional / Não classificada	<ul style="list-style-type: none"> • Evento ou alteração (anormal) em exame laboratorial; • Mais dados são necessários para uma avaliação apropriada, ou; • Dados adicionais sob investigação.
Inacessível/ Inclassificável	<ul style="list-style-type: none"> • A narrativa do relato sugere uma reação adversa; • Não pode ser classificada porque a informação é insuficiente ou contraditória; • Os dados não podem ser suplementados ou verificados.

ANEXO 9 – Critérios para avaliação causalidade de evento adverso

Evento Adverso	Data Início	Data Término	Gravidade	Relação com o produto sob investigação	Conduta em relação ao tratamento de LV	Tratamento dado para EA	SAE	Resultado
<i>(descreva e numere cada evento adverso)</i>	<i>(DD/MM/AA)</i>	<i>(DD/MM/AA)</i>	<i>(1) Grau 1 (2) Grau 2 (3) Grau 3 (4) Grau 4</i>	<i>(1) Não relacionado (2) Possível (3) Provável (4) Definitivo</i>	<i>(1) Sem alterações (2) Tratamento interrompido temporariamente (3) Tratamento descontinuado</i>	<i>(1) Sim* (2) Não</i> <i>*Se sim, favor preencher a CRF de medicações concomitantes</i>	<i>(1) Sim (2) Não</i>	<i>(1) Resolvido (2) Recuperado com seqüelas (3) Continua (4) Morte (5) Perda de seguimento</i>