



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

CLÁUDIO GLEIDISTON LIMA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA DO FLUCONAZOL NA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR HUMANA**

**FORTALEZA
2012**

CLÁUDIO GLEIDISTON LIMA DA SILVA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA DO FLUCONAZOL NA LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR HUMANA

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho.

FORTALEZA
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

- S579a Silva, Cláudio Gleidiston Lima da
Avaliação da eficácia terapêutica do fluconazol na leishmaniose tegumentar humana. / Thais Marques Lima. – 2012.
96f. : il. color
- Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2012.
Orientação: Prof. Dr. Manuel Odorico de Moraes Filho.
1. Leishmaniose cutânea - Tratamento. 2. Fluconazol. 3. Meglumina – uso terapêutico. I. Título

CDD: 616.9364

CLÁUDIO GLEIDISTON LIMA DA SILVA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA DO FLUCONAZOL NA LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR HUMANA

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em: 16/03/ 2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Anastácio de Queiroz Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Antônio Wilson Vasconcelos
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof.^a Dr.^a Glauce Socorro Barros Viana
Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ)

Prof.^a Dr.^a Sally de França Lacerda Pinheiro
Universidade Federal do Ceará – Campus Cariri

A Elohim
Aos meus pais Cláudio e Mary
A minha esposa e filhas
Ao meu orientador, Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que mesmo sem conhecê-lo, sem ter a certeza de que Ele exista, deu-me a perspectiva da dúvida, da incerteza, mediante as quais mantive a disposição de chegar aonde cheguei, com saúde e motivação.

Aos meus pais, sem eles não teria como agradecer.

A minha esposa e filhas, sem elas não haveria o sentido de ser.

A minha irmã o outro lado de mim, Lindalva.

Ao professor **Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho** pela justeza, pelo seu trabalho na expansão do conhecimento, pela oportunidade de desfrutar de sua amizade e iniciar o Doutorado. Infelizmente não superarei o mestre. Deixarei Da Vinci silencioso: - *O discípulo que não supera o mestre é incompetente.*

Ao professor **Dr. Anastácio de Queiroz Souza** pela oportunidade de permitir o término do meu Doutorado; sou-lhe eternamente grato.

A **Senhora Norma de Carvalho Linhares**, Diretora da Biblioteca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, Campus Porangabussu, pelo seu prestimoso trabalho de revisão catalográfica, bibliográfica e sugestões na formatação deste trabalho, sem o qual o brilho estaria ofuscado. Minha eterna gratidão.

Ao colega Joel Boechat de Moraes Júnior, figura ímpar, como médico, colega e docente. Agradeço pelas oportunidades propiciadas para o término desta tese.

Aos colegas professores da UFC do Curso de Medicina do Cariri, pelo compromisso de transformar aprendizes de feiticeiros em magos vestidos de branco. Em particular, ao colega que escrutinou todos os pacientes deste estudo. Agradecimento carinhoso às Professoras Doutoras Yaci e Neile Torres, ao dileto amigo e humanista pensador, Professor Marciano Lima Sampaio, e ao grande mestre e amigo de batalha, professor Doutor Luciano Moreira, um irmão mais velho que não tive.

Aos colegas funcionários do Curso de Medicina da UFC em Barbalha (efetivos e terceirizados). Anônimos, estão construindo um verdadeiro templo de Hipócrates.

Aos estudantes, minha gratidão pela ajuda em todas as fases de minha atividade na direção do Curso de Medicina da UFC em Barbalha, na gestão do curso e no desenvolvimento deste trabalho.

Aos pacientes; sem eles nada disto seria possível.

RESUMO

A leishmaniose é um grupo de doenças com um extenso espectro, cosmopolita, porém com ampla e significativa incidência na zona tropical. A leishmaniose apresenta-se sob duas formas, uma visceral envolvendo estruturas do sistema hemolinfopoiético; outra com envolvimento cutâneo e/ou mucoso, amíúde, sem visceralização. Esta última, conhecida como leishmaniose tegumentar (LT), alvo deste estudo, tem como um dos grandes problemas o tratamento, realizado mediante formulações injetáveis com risco de complicações no local da aplicação e o risco de danos às funções hepática e renal, além de alterações cardíacas. Vários ensaios mostram resultados satisfatórios utilizando o Fluconazol®. Visando a consolidar os resultados descritos na literatura, este estudo procurou demonstrar a eficácia terapêutica do Fluconazol® em altas doses no tratamento da LT, em pacientes de uma área endêmica no Sul do Estado do Ceará, Brasil, Município de Barbalha. Realizou-se um estudo prospectivo, randomizado, com dois grupos de pacientes. Sessenta do Grupo I fizeram uso de 300mg ou 450mg de Fluconazol® durante seis semanas. Sessenta do Grupo II fizeram uso de Glucantime com 20mg/kg/dia, durante 20 dias consecutivos. O diagnóstico de LT foi realizado com Imprint, cultura, biopsia com histopatológico corado pelo Giemsa e Imuno-histoquímica, e a Intradermoreação de Montenegro. Todos os pacientes foram avaliados clinicamente e acompanhados durante até 90 dias. As variáveis contínuas foram avaliadas pelo Test *t* de Student; para a correlação de variáveis, utilizou-se o Coeficiente de Correlação de Pearson (*r*). O tempo de cura de cada grupo teve sua avaliação realizada pelo método de Kaplan-Meier. Em todos os testes de hipótese o α foi considerado significativo quando menor do que 5% ($p < 0,05$). A eficácia terapêutica (ET) foi calculada com base na redução do risco relativo. A população estudada era predominantemente constituída de indivíduos com faixa etária entre 30 e 40 anos de idade, cor de pele parda, rurícolas agricultores, com discreta prevalência do sexo feminino. Os resultados mostraram uma eficácia terapêutica de 38,7%. A cura teve relação com o tamanho da lesão, dados estatisticamente representativos $p < 0,0001$. Lesões com tamanho inferior a 30 mm (isolada ou somatório de várias lesões), responderam prontamente ao Fluconazol®.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea. Fluconazol. Meglumina.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a group of diseases with a large spectrum, cosmopolitan, but with broad and significant impact in the tropical zone. Leishmaniasis presents itself in two forms, one visceral involving hemolinfopoietic system structures, other with skin and / or mucosa involvement, often without visceralização. The latter, known as cutaneous leishmaniasis (CL) is the aim of this study. One of the major problems in the CL is treatment procedure using injectable formulations, with risk for complications from the injection and the risk of damage to the liver and kidney function and cardiac complications. Several tests have demonstrated satisfactory results using Fluconazole®. In order to consolidate the results described in the literature, this study sought to demonstrate the therapeutic efficacy of Fluconazole® with high-dose treatment of LT in patients from an endemic area in the southern state of Ceará, Brazil, City of Barbalha. We conducted a prospective randomized study with two groups of patients. Sixty of the Group I: they were treated with 300mg or 450mg of fluconazole® for six weeks. Sixty Group II: they were treated with Glucantime 20mg/kg/day for 20 consecutive days. The diagnosis of CL was performed with Imprint, culture, biopsy and histopathological stain with Giemsa and immunohistochemistry. Montenegro's Intradermoreaction was also performed. All patients were evaluated clinically and followed up for ninety days. Continuous variables were evaluated by Student's t test, and for the correlation of variables the Pearson correlation coefficient (r) was used. The time healing of each group had its evaluation by Kaplan-Meier method. In all tests the hypothesis α was considered significant when less than 5% ($p < 0.05$). The therapeutic efficacy (ET) was calculated based on the reduction of relative risk. The study population was predominantly made up of individuals between 30 and 40 years, brown skin color, peasants, rural people, with a slight prevalence of females. The results showed therapeutic efficacy of 38.7%. The cure was related to the size of the lesion, relevant factor in the statistical $p < 0.0001$. The lesions smaller than 30 mm (alone or sum of multiple lesions) responded promptly to Fluconazole®.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis. Fluconazol. Meglumine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Métodos diagnósticos da LT e suas expressões, positivas ou negativas.	52
Tabela 2-	Variáveis epidemiológicas e suas distribuições em pacientes portadores de leishmaniose tegumentar.....	53
Tabela 3 -	Dados clínicos dos pacientes portadores de LTA, tratados com Fluconazol® e Glucantime ®.	54
Tabela 4-	Apresentação dos dados laboratoriais dos pacientes portadores de LTA, tratados com Fluconazol® e Glucantime®.....	56
Tabela 5-	Sucesso da terapia intragrupo de pacientes portadores de LTA tratados com Fluconazol® e Glucantime®.....	57
Tabela 6-	Relação do tamanho da lesão e o efeito do tratamento com Fluconazol® em pacientes portadores de LT.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Formas promastigotas de leishmania.....	21
Figura 2 -	Formas amastigotas de leishmanias.....	21
Figura 3 -	Taxonomia da <i>Leishmania spp.</i>	22
Figura 4 -	<i>Phlebotomus spp.</i> em âmbar.....	23
Figura 5-A	Leishmaniose cutânea forma ulcerada simples.....	29
-		
Figura 5-B	Leishmaniose cutânea forma mucosa.....	29
-		
Figura 5-C	Leishmaniose cutânea forma difusa.....	29
-		
Figura 5-D	Leishmaniose cutânea forma disseminada.....	29
-		
Figura 6-A	Histopatologia da LT – pseudoepiteliomatose.....	30
-		
Figura 6-B	Histopatologia da LT – exsudação dérmica inespecífica.....	30
-		
Figura 7-A	Histopatologia da LT – perivasculite linfocitária.....	30
-		
Figura 7-B	Histopatologia da LT – forma granulomatosa.....	30
-		
Figura 8 -	Fluxo de procedimentos diagnósticos na LT.....	33
Figura 9 -	Representação da fórmula do tártaro emético.....	34
Figura 10 -	Representação da fórmula dos antimoniais pentavalentes.....	34
Figura 11 -	LT, aspecto inicial e pós-tratamento.....	41
Figura 12 -	Leishmanias observadas pela imuno-histoquímica (A), histopatológico – Giemsa (B) e pelo Imprint (C) em material oriundo de portadores de LT.....	51
Figura 13 -	Tamanho das lesões em pacientes portadores de LT tratados com Fluconazol ® e Glucantime ®.....	55

Figura 14 -	Expressão matemática do cálculo da eficácia terapêutica.....	57
Figura 15 -	Aspecto clínico da LT ativa e pós-tratamento.....	59
Figura 16 -	Plotagem do produto limite de pacientes com LT tratados com Fluconazol®.....	59
Figura 17 -	Plotagem do Produto Limite de pacientes com LT tratados com Glucantime®.....	60
Figura 18 -	Plotagem do Produto Limite de pacientes portadores de LT tratados com Glucantime® e Fluconazol®.....	60
Figura 19 -	Lesões ulceradas e cicatrizadas de LTA com diâmetro menor que 30 mm.....	67
Figura 20 -	Lesões ulceradas de LTA com diâmetro maior que 30 mm.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABX PENTRA	Analisador hematológico com 32 parâmetros
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BALB/C	Camundongos albinos oriundos da cepa camundongo-cavalo
BIOBRAS	Empresa brasileira do ramo bioenergético
BOD	Estufa para cultura de leishmanias
C3b	Fração três do complemento - quimiotática
C56BL/6	Camundongos geneticamente modificados para estudos de doenças humanas
CAA _g	Células apresentadoras de antígenos
CD4 ⁺	Linfócito T auxiliar ativado
CD8 ⁺	Linfócito T citotóxico auxiliar
CH3	Camundongos imunodeficientes para fração três do complemento
CPPI	Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiologia
CR1	Receptor de fração do complemento
CR3	Receptor de membrana celular para a fração C3 do complemento
DAKO	Empresa multinacional fabricante de aparelhos e de <i>kits</i> para ensaios biomédicos <i>in vitro</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DNA topoisomerase	Enzima envolvida na duplicação e no empacotamento do DNA
ECG	Eletrocardiograma
EV	Endovenoso
EXCELL	Planilha eletrônica da Microsoft©
Gp63	Glicoproteína 63 - protease envolvida no mecanismo de escape da leishmania no interior de macrófagos
GRAPHPAD PRISM	Programa para cálculos estatísticos e geração de gráficos

HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IDRM	Intradermorreação de Montenegro
IFN γ	Interferon γ , fator ativador de macrófago, responsável pela modulação da resposta imunitária inata e adaptativa
IL-10	Interleucina 10, fator inibitório da síntese de citocina humana
IL-12	Interleucina 12, fator estimulador de células T
IL-13	Interleucina 13, mediador inflamatório nas respostas alérgicas
IL-4	Citocina que induz a diferenciação de linfócito Th0 em Th2
IM	Intramuscular
LABMAX 240	Analisador bioquímico automatizado
LABTEST	Indústria de <i>kits</i> para diagnóstico <i>in vitro</i>
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
LCDi	Leishmaniose cutânea disseminada
LCL	Leishmaniose cutânea localizada
LCM	Leishmaniose cutânea mucosa
Leishvacin®	Vacina para LT produzida pela BIOBRAS
LPG	Lipofosfoglicano presente na membrana de leishmanias
LSAB	<i>Kit</i> de visualização da DAKO para imuno-histoquímica
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar humana
MHC	Complexo maior de histocompatibilidade
MHOM/BR	Identificador das espécies de leishmania no Brasil
MIP-1 α	Quimiocina quimiotática para macrófagos
NaCl	Cloreto de sódio
NNN	Novy-McNeal-Nicolle, meio de cultura utilizado para isolamento e preservação de leishmania
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde

p150-95	Integrina – receptor de complemento
Rhifn-g®	Interferon gama humano recombinante
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
SbV	Antimônio pentavalente
SPSS	Programa de computador para cálculos estatístico, acrônimo de: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCD4+CD25+	Célula T regulatória, relacionada com a supressão da resposta imunológica em algumas doenças
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	Tártaro emético
TGFβ	Fator de transformação do crescimento. Proteína que controla a proliferação e a diferenciação celular
TGO	Enzima transaminase glutâmico oxalacética, atualmente denominada aspartato aminotransferase (AST)
TGP	Enzima transaminase glutâmico pirúvica, atualmente denominada alanina aminotransferase (ALT)
Th0	Linfócitos T auxiliares não sensibilizados
Th1	Linfócitos T auxiliares ativados produtores de IL-12, IFN γ
Th2	Linfócitos T auxiliares ativados produtores de IL-4, IL10
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano, composto utilizado como tampão em ensaios bioquímicos

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
©	Copyright – Direitos autorais
®	Marca registrada
%	Porcentagem
R\$	Símbolo da moeda brasileira – Real
nm	Nanômetro
mm	Milímetros
kg	Quilograma
mg	Miligrama

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	Ecoepidemiologia.....	19
2.2	<i>Leishmania</i>.....	20
2.3	Vetor.....	23
2.4	Ciclo biológico.....	23
2.5	Imunopatologia.....	25
2.5.1	<i>Padrão de resposta th1</i>.....	25
2.5.2	<i>Padrão de resposta th2</i>.....	26
2.5.3	<i>Padrão de resposta imunológica na leishmaniose humana</i>.....	26
2.6	Aspectos clínicos.....	27
2.6.1	<i>Infecção assintomática e oligossintomática</i>.....	28
2.6.2	<i>Leishmaniose cutânea localizada (LCL)</i>.....	28
2.6.3	<i>Leishmaniose cutâneo-mucosa (LCM)</i>.....	28
2.6.4	<i>Leishmaniose cutânea disseminada (LCDi)</i>.....	29
2.6.5	<i>Leishmaniose cutânea difusa (LCD)</i>.....	29
2.7	Padrões histológicos da leishmaniose tegumentar.....	29
2.8	Diagnóstico.....	31
2.9	Tratamento.....	33
2.10	Critérios de cura da leishmaniose tegumentar.....	40
3	OBJETIVOS.....	43
3.1	Objetivos gerais.....	43
3.2	Objetivos específicos.....	43
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
4.1	Caracterização dos indivíduos da pesquisa.....	45

4.2	Diagnóstico parasitológico.....	46
4.3	Definição dos grupos e tratamentos.....	47
4.4	Acompanhamento e ensaios laboratoriais.....	48
4.5	Análises estatísticas.....	49
5	RESULTADOS.....	51
6	DISCUSSÃO.....	61
7	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS.....	71
	APÊNDICES.....	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é um grupo de doenças com um amplo espectro, cosmopolita, porém com ampla e significativa incidência na zona tropical. É doença antiga, já descrita nas entrelinhas do Velho Testamento, como se lê em II Reis 20-7: “[...]Disse mais Isaias: tomai uma pasta de figos; tomaram-na e a puseram sobre a úlcera; e ele recuperou a saúde[...]”. (ALMEIDA, 1969). A leishmaniose apresenta-se em duas formas, uma visceral envolvendo estruturas do sistema hemolinfopoiético; outra com envolvimento cutâneo e/ou mucoso, amíúde, sem visceralização. Esta última, conhecida como leishmaniose tegumentar (LT), é o alvo deste estudo.

A literatura assevera que a leishmaniose tegumentar é endêmica em 88 países da África, Ásia, Europa, América do Sul, Central e do Norte e, segundo a Organização Mundial de Saúde, em torno de 12 milhões de indivíduos estão infectados, a casuística mostra 1,5 a 2 milhões de casos novos/ano, estando 350 milhões de pessoas expostas à infecção, tendo como agravante, em algumas áreas do globo, a resistência aos antimoniais. Ademais, o número e variedade de casos importados estão aumentando, inclusive as formas que determinam mutilações nos indivíduos, em determinadas áreas do mundo (GRIMALDI; TESH, 1993; GRIMALDI; TESH; McMAHON-PRAT, 1989).

2 REVISÃO DA LITERATURA

Ancestrais dos atuais artrópodes transmissores da LT foram descritos em fósseis do período jurássico, datado de 160.000.000. No tocante ao agente etiológico, ancestral, monoxênico, denominado *SAUROLEISHMANIA*, foi identificado em animais de sangue frio no Cretáceo, lagartos, há pelo menos 120.000.000 de anos (SHAW, 1997). As evidências sugerem que o atual agente etiológico, heteroxênico, parece ter surgido de tripanosomatídeo-*Crithidia*; *Herpetomonas* - há 90.000.000 de anos, quando do aparecimento dos primeiros mamíferos. A evolução permitiu a diversificação da espécie e a sobrevivência em dois ambientes vivos distintos, um de ciclo rápido, no intestino do inseto vetor; outro de duração mais longa, no meio intracelular de vertebrados hospedeiros (SHAW, 1997).

No Velho Mundo é observada desde o Senegal, na África, Índia, Mongólia, Sul da França e Namíbia (ALRAJHI, 2003). É conhecida classicamente como botão-oriental, botão-

de-Delhi, botão-de-Aleppo, dentre outros. Em muitos destes centros a leishmaniose tegumentar perdeu o elo inicial, e, não raro, desapareceu (PESSOA; MARTINS, 1978).

Historicamente, Balthasar Ramirez, em 1580 (BECK, 2012), descreveu pela primeira vez a leishmaniose tegumentar nas Américas, embora ela já incomodasse o Velho Mundo como “botão do oriente”. Na América Pré-Colombiana, há evidências arqueológicas da existência de LT em estatuetas incas que mostram lesões degenerativas das narinas, “huacos” (ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003). Coube a Cunningham (1885) a primeira observação do parasita do gênero *Leishmania*, na Índia, em caso de calazar. Posteriormente, Borovsky (1889), apresentou com detalhes este parasito em caso de LT. Ross, em 1903, designou o nome apropriado para o gênero. No mesmo ano, Wright denominou de *Leishmania tropica* o parasito do “Botão do Oriente”, como é conhecida a LT no velho mundo. Portanto, a descoberta do agente é fato recente, apesar de sua longa história de existência (MICHALICK, 1997; GENARO, 1997a, 1997b; WILLIAMS, 1997).

Tem transmissão registrada em todos os continentes, exceto Austrália e Antártida (CONNOR *et al.*, 1997). A ausência do parasito nestes continentes é explicada com base na filogeomorfologia. A Austrália separou-se bem antes do bloco África-América, quando já existiam os vetores, mas não os parasitos (SHAW, 1997). Não obstante a leishmaniose tegumentar apresentar ancestral único, a separação dos continentes e a biodiversidade do vetor determinaram variações no padrão parasitário e na diversidade clínica da doença.

2.1 Ecoepidemiologia

A transmissão da leishmaniose tegumentar está na dependência de condições geocológicas e climáticas que propiciem uma rica fauna flebotômica com fontes potenciais de repastos sanguíneos para o vetor, de modo geral pequenos mamíferos vertebrados silvestres, tais como marsupiais e roedores, configurando primariamente a LT como uma zoonose com eventuais picos epizoóticos. No Novo Mundo, o homem, ao se infiltrar no ambiente silvestre da LT, expor-se-ia ao parasito, por picada do vetor, como hospedeiro acidental (LAINSON; SHAW, 1987).

A leishmaniose tegumentar do Novo Mundo (neotropical) é considerada como doença ocupacional, em definitivo ou temporariamente, para os indivíduos que trabalham com ou na selva. Este fato explica a alta prevalência da LT em soldados do exército brasileiro em treinamento prolongado na selva amazônica, bem como trabalhadores de construção de

rodovias que estão em contato com a mata, abrindo caminho para viabilização de estradas, garimpeiros, indivíduos que trabalham em indústria de óleo e de madeira (MAYRINK *et al.*, 1979).

No Novo Mundo, a LT vinha se comportando como doença essencialmente rural, contudo, no Ceará (OLIVEIRA LIMA, 1995) e no Rio de Janeiro (KAWA; SABROZA, 2002), registrou-se o caráter expansivo periurbano da doença, com ciclos epizoóticos caninos.

No Estado do Ceará, ressalta-se a umidade do solo em regiões de altos índices pluviométricos na geração de condições favoráveis à proliferação de flebotomos, e a sazonalidade da LT seria função da densidade populacional da fauna flebotômica, sendo, portanto, variável de região para região (QUEIROZ *et al.*, 1994; JÚNIOR *et al.*, 2009).

No Brasil, três perfis ecoepidemiológicos de leishmaniose tegumentar podem ser observados: 1- puramente silvestre, ocorrendo em surtos epidêmicos associados a derrubadas de matas. Trata-se, portanto, de zoonose de animais silvestres, como descrita na Amazônia brasileira; 2- periurbana, ocorrendo em áreas de colonização antiga. Servem de reservatórios os cães domésticos e equinos. Esta é a forma predominante nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil; 3- silvestre modificada, ocorrendo na forma de surtos epidêmicos sazonais em áreas com focos residuais de mata primária (mata atlântica). É a forma descrita em Caratinga, Viana, Mariluz, Crato, Barbalha e Baturité (VASCONCELOS, 1996).

2.2 Leishmania

Protozoário que se apresenta sob duas formas - uma flagelada ou promastigota (Figura 01), forma de vida livre presente no tubo digestivo de hospedeiro invertebrado (flebotomo); outra aflagelada ou amastigota, que se desenvolve nas células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro vertebrado (Figura 02); parasito unicelular que se reproduz por divisão binária. A membrana plasmática ou periplasto é dupla, com 10nm de espessura. O citoplasma mostra microtúbulos que variam em quantidade por espécie. No hialoplasma há vacúolos e grânulos, núcleo e o cinetoplasto (mitocôndria gigante). A leishmania é bem visualizada por corantes derivados do Romanowsky, com núcleo azul e cinetoplasto rosado (PESSOA; MARTINS, 1978). Ela expressa na membrana plasmática certa quantidade de moléculas com natureza química complexa, constituindo importante ferramenta no tropismo e na virulência parasitária. Duas destas moléculas, a glicoproteína 63 - gp63, protease de membrana envolvida na clivagem do complemento, e o lipofosfoglicano - LPG, macromolécula abundante na superfície de leishmanias, formando um revestimento

contínuo sobre a membrana plasmática do parasita, facilitando a fagocitose e a sobrevivência no interior de macrófagos; permitem, dentre outros efeitos, a internalização do parasito e sua sobrevivência, facilitada no interior do vacúolo fagocitário de macrófagos, configurando a situação de coparticipação entre parasito e célula hospedeira, descrito como abrigo seguro, um alvo seguro, *safe target* (MURRAY; RUBIN; ROTHERMEL.,1983). A gp63 exibe atividade de protease ácida, degradando a porção C3 do sistema complemento (BOGDAN; ROLLINGHOFF, 1998). A LPG (lipofosfoglicano) encontra-se expressa na superfície de todas as espécies de leishmanias virulentas, interage com heterodímeros glicoprotéicos da família das integrinas de membrana (p150, 95) e receptores CR3, ambos expressos na membrana de macrófagos (KEDZIERSKI *et al.*, 2004; FREITAS; SANTOS, 2006).

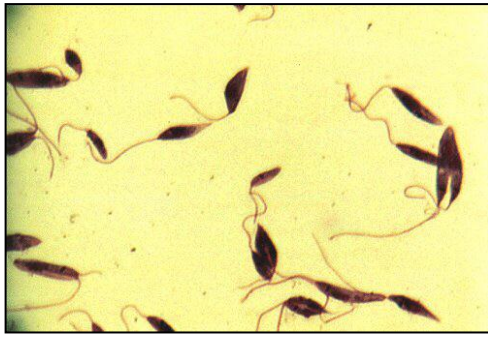


Figura 1 – Formas promastigotas de leishmanias.
Fonte: SOUZA *et al.*, 2009).

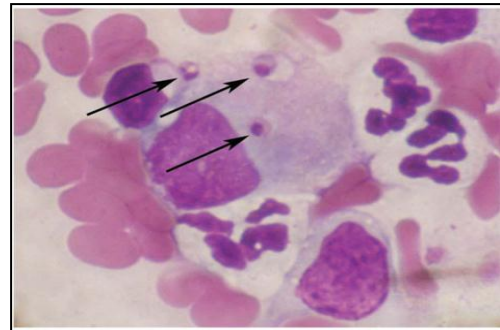


Figura 2 – Formas amastigotas de leishmanias.
Fonte: SOUZA *et al.*, 2009).

Em 1990, a OMS reuniu as diversas espécies de leishmanias responsáveis por LT no Novo Mundo e classificou-as em dois subgêneros, com diferentes complexos fenotípicos, o *Viannia* e o *Leishmania*. No primeiro, o parasito desenvolve-se no intestino posterior do flebótomo; no segundo, no intestino médio e anterior (Figura 03), (LAINSON; SHAW, 1987).

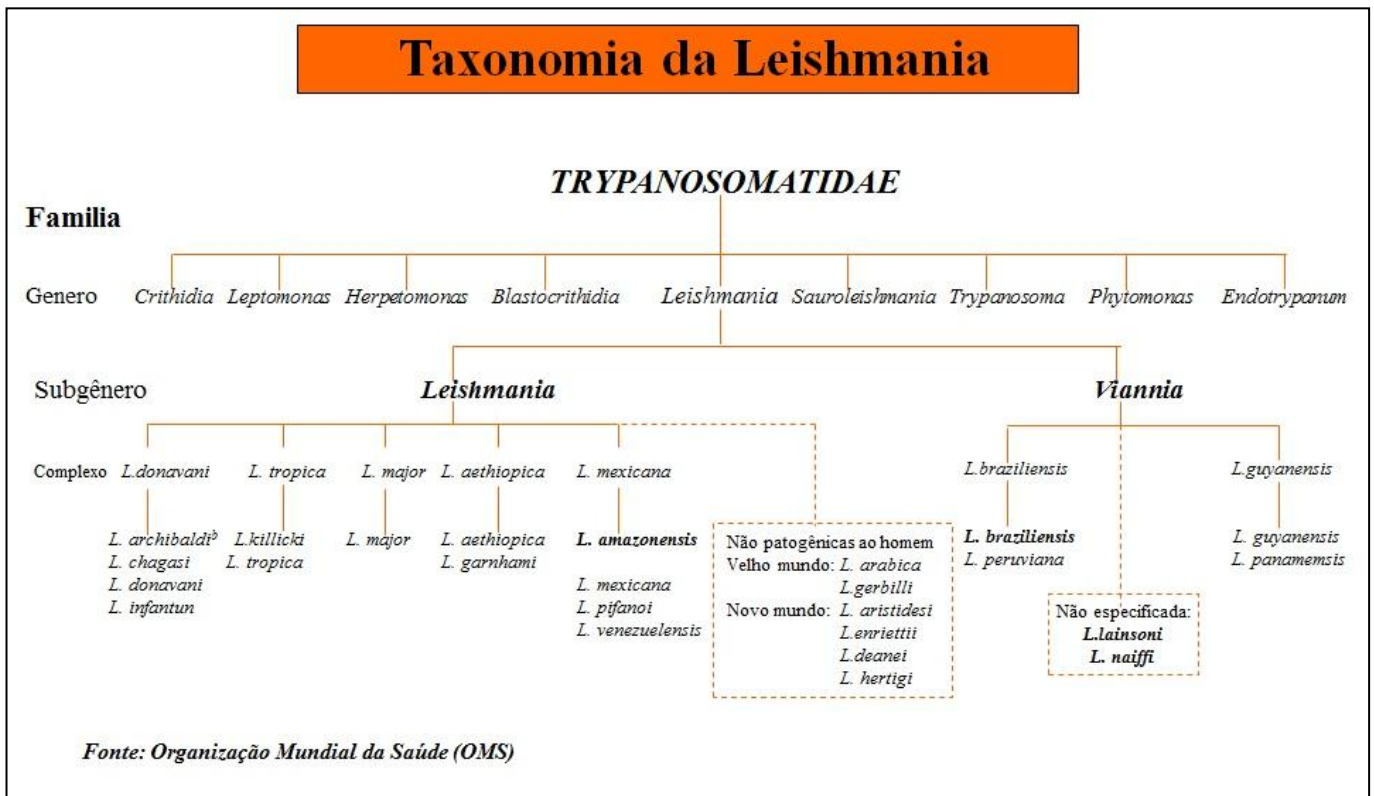


Figura 3 – Taxonomia da *Leishmania* sp.

2.3 Vetor

Trata-se de invertebrado díptero do gênero *Lutzomyia*, no Novo Mundo e *Phlebotomus*, no Velho Mundo (POINAR Jr., 2008), (Figura 4). No Brasil são insetos pequenos, no máximo 03 mm, conhecidos como “birigui”, “mosquito-palha”, “cangalhinha”, “asa de palha”, “arrepiação”, “tatuquira”. Desenvolvem-se mais apropriadamente em temperaturas amenas 25-27°C. Possuem atividade crepuscular e pós-crepuscular, durante o dia permanecendo em locais úmidos e sombrios sem correnteza de ventos. Ocasionalmente exibem atividade diurna, particularmente, em matas úmidas e sombrias. A distância dos voos é variada na literatura, parecendo mudar em função de região. Registros variam de 43 metros a dois quilômetros. A literatura descreve-o como sazonal frequente nos meses quentes e escassos nos frios. Os insetos são atraídos pela luz e somente as fêmeas são hematófagas.

Machos alimentam-se de mel, açúcar e frutas. Em condições experimentais as fêmeas podem viver até 27 dias. No *habitat* natural o *Phlebotomus papatasi* pode sobreviver até seis semanas, podendo variar de acordo com a temperatura e umidade (WHITTINGHAM, 1923). Os flebotomos não transmitem somente a leishmaniose, mas a febre dos três dias e moléstia de Carrión (PESSOA; MARTINS, 1978; SANTOS *et al.*; 1998). A cópula se processa, amiúde, em repouso. Não obstante, poderá ocorrer em pleno voo. Durante o ato, o casal se dispõe em igual direção com extremidade anterior em sentidos opostos. Poderá ocorrer antes ou após o repasto, após o qual a fêmea deposita de 40 a 70 ovos em local úmido, sombrio e rico em matéria orgânica, onde permanecem aderidos de seis a 17 dias. Após este período eclodem as larvas que se alimentam do suco orgânico decomposto local. Em um período de 15 a 70 dias, inicia-se a fase pré-adulta ou pulpar, variável de seis a 16 dias, dependendo da espécie, quando então aparece o inseto adulto (SHARMA; SINGH, 2008).



Figura 4 – *Phlebotomus sp.* em âmbar.
Fonte: POINAR, 2008.

2.4 Ciclo biológico

O ciclo biológico da leishmania é marcado por duas fases, independentemente do gênero e espécie do vetor. A fêmea, ao picar o vertebrado, poderá se infectar na aspiração do sangue durante o repasto. As formas amastigotas deglutidas serão liberadas no intestino do inseto e por divisão binária se transformarão rapidamente em promastigotas, ainda no sangue digerido. Após três a quatro dias, as promastigotas livres, quando do complexo *Viannia*, aderem-se pelo flagelo ao epitélio intestinal, se transformando em paramastigotas, migrando em seguida para a faringe, assumindo forma de pequenas promastigotas, móveis e infectantes;

o gênero *Leishmania* coloniza o estômago, metamorfoseando-se em paramastigotas; em seguida, coloniza o esôfago e faringe, transformando-se em promastigotas infectantes, num período de três a cinco dias (LAINSON; SHAW, 1987). A fêmea, ao picar o vertebrado durante o repasto sanguíneo, regurgita promastigotas infectantes no local da picada. Estima-se que esta inocule de 0 a 1000 parasitos. Segue-se a interação da leishmania com neutrófilos, eosinófilos e mastócitos. Estudos *in vitro* demonstraram a interação das proteínas pg63 e LPG, presentes na membrana celular de leishmanias infectantes, com integrinas presentes à superfície das células apresentadoras de antígenos, CR3 e p150-95 (BOGDAN; ROLLINGHOFF, 1998; OLIVIER; GREGORY; FORGET, 2005). Em seguida, indivíduos não imunes ativam o complemento pela via clássica, opsonizando o parasito com C3b, que ativará a fagocitose via receptor de C3b - CR1 e CR3, presentes na superfície de macrófagos (WHEELER; GLUENZ; GULL, 2011; KEDZIERSKI *et al.*, 2004).

As formas promastigotas, após a fagocitose, transformam-se em amastigotas resistentes à ação enzimática. Segue-se divisão binária. Os mecanismos de escape do parasito à digestão enzimática são atributos do parasito vivo, visto que leishmanias não viáveis são prontamente digeridas quando fagocitadas (OLIVIER; GREGORY; FORGET, 2005). O macrófago apresenta três papéis importantes: como célula hospedeira de parasitos; como apresentador de antígeno ao sistema imune e como célula efetora da morte do parasito (FARAH; SAMRA; NUWAYRI-SALTIT, 1975). Embora a microscopia eletrônica tenha identificado outras células eventualmente parasitadas, como fibroblastos e gigantócitos multinucleados, o macrófago continua sendo a célula de importância central na infecção leishmaniótica, visto que a leishmania intensifica sua proliferação no interior do macrófago, até rompê-lo, liberando novos parasitos no interstício (BRAY; ALEXANDER, 1987; VASCONCELLOS; SOTTO, 1997). Caso o flebótomo tenha acesso a este sítio, o ciclo poderá se reiniciar.

O curso da infecção dependerá, principalmente, da interação parasita-macrófago, podendo ser observados dois tipos de resposta, detectados experimentalmente em murinos infectados com *L. major*. Camundongos CH3 e C56BL/6 apresentam a lesão inicial e controlam a infecção, com cura aparente, desenvolvendo resposta Th1, caracterizada pela produção de interferon-gama e TNF α (SCOTT *et al.*, 1988); por outro lado, camundongos BALB/c são susceptíveis à doença, expandindo-se e visceralizando-se, desenvolvendo resposta tipo Th2, caracterizada pela síntese das interleucinas (IL) IL-4, IL-10, IL-13 e TGF β (HEINZEL *et al.*, 1989; ROBERTS, 2006).

2.5 Imunopatologia

Os estudos mostram que logo após a picada do flebótomo, lago sanguíneo é formado no derma, onde são deixadas saliva e formas promastigotas em número variável (RIBEIRO, 1995), de 0 a 1000 (WARBURG; SCHLEIN, 1986). Dependendo da quantidade de formas inoculadas e de substâncias presentes na saliva do flebótomo, haverá variação no padrão de infecção (GILLESPIE; MBOW; TITUS, 2000; BELKAID *et al.*, 1998).

Os parasitos inoculados liberam cinases capazes de fosforilar moléculas do complemento, presentes no local da injúria, inibindo a via clássica e alternada, servindo como perfeito mecanismo de fuga (BOGDAN; ROLLINGHOFF, 1998). Outro mecanismo de escape é a inibição da produção de IL-12 pela LPG, presente na membrana da leishmania (PIEDRAFITA *et al.*, 1999).

No leito da injúria, flogose se desenvolve com o afluxo de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos, que podem fagocitar o parasita (POMPEU *et al.*, 1991). No interior de macrófagos não ativados e células dendríticas, o parasito prolifera como forma amastigota. Algumas destas células parasitadas migram para o linfonodo regional. Durante a fase inicial, ceratinócitos, leucócitos ativados e até mastócitos podem produzir quimiocinas e citocinas que auxiliarão na interação das células apresentadoras de antígenos com os linfócitos. Esta reação determina produção aumentada de interferon-gama (INF γ) e o aparecimento de linfócitos T, permitindo que as células apresentadoras de antígenos, macrófagos, células de Langhans e linfócitos B alcancem o linfonodo regional, expressando as moléculas processadas do antígeno às células T CD4+, desencadeando a sensibilização e expansão das células efectoras. O padrão de resposta dependerá do tipo da CAAg (célula apresentadora de antígeno), das moléculas coestimulatórias presentes, das quimiocinas e citocinas predominantes no microambiente, nos primeiros momentos da sensibilização linfocitária (POMPEU, 2001).

2.5.1 Padrão de resposta Th1

Os momentos iniciais da infecção se mostram cruciais para se definir o futuro padrão de resposta linfocitária. A produção de interferon-gama nos primeiros dias da infecção, oriundos de células “*natural killer*” NK (SCHARTON-KERSTEN; SCOTT, 1995),

induz a produção de IL-12 por CAAG, que, por sua vez, tem efeito amplificador na produção de interferon gama por células NK (SUTTERWALA; MOSSER, 1999). A produção deste interferon é vital para a diferenciação de linfócitos Th0 em Th1, bem como da inibição da diferenciação Th2 (LEIBY; SCHREIBER; NACY, 1993). As evidências sugerem que para a definição do tipo de resposta imune, a espécie de CAAG no linfonodo terá importância. A diferenciação de linfócitos Th1 parece ser necessária à sensibilização por células de Langhans (POMPEU, 2001). Os estudos mostram de fato que, com a produção aumentada de IFN γ e o aparecimento de TNF α , mecanismos microbicidas são ativados em macrófagos, via produção de NO e de radicais livres (NATHAN *et al.*, 1983; MAUEL; CORRADIN; ROUILLER, 1991). Como resultado, controle da infecção e cura.

2.5.2 Padrão de resposta Th2

A resposta Th2 está caracterizada pela elevada produção de IL-4, IL-10, IL-13 e TGF β (SCOTT *et al.*, 1989), contudo os mecanismos responsáveis por tais eventos não se encontram bem definidos. A IL-4 pode ser produzida por leucócitos, linfócitos T CD4+, dentre outras células (BRANDT *et al.*, 2000; NOBEN-TRAUTH; HU-LI; PAUL, 2000). Esta interleucina é quimiotática para macrófagos, estes se não ativados servirão de reservatório para leishmanias. A IL-4, ainda, inibe a migração de células de Langhans para linfonodos (TAKAYAMA *et al.*, 1999). Este fenômeno é potencializado pela IL-10. Na vigência de tais eventos, no microambiente da injúria, macrófagos chegarão ao linfonodo como principais células apresentadoras de antígenos; eles não expressarão apropriadamente moléculas MHC classe I e II, infectados por amastigotas ou promastigotas, tampouco moléculas coestimulatórias e não serão capazes de sintetizar IL-12 (MAROVICH *et al.*, 2000). Ao mesmo tempo este macrófago passa a produzir grandes quantidades de IL-10 (DING *et al.*, 1993). Tais eventos culminam com a desativação de macrófagos e a inibição da produção de IFN γ (KANE; MORSE, 2000). Desta forma, ficam criadas condições para a permanência e desenvolvimento da leishmania, por conseguinte, da doença.

2.5.3 Padrão de resposta imunológico da leishmaniose humana

A leishmaniose humana exhibe amplo espectro de resposta imunológica, sendo essencial a imunidade mediada por célula para o controle da infecção. Num dos polos estão as

infecções assintomáticas ou paucisintomáticas que apresentam resposta do tipo Th1 (KEMP *et al.*, 1994; CARVALHO *et al.*, 1995). Do outro lado estão os pacientes anérgicos, apresentando a forma difusa da doença (LCD), que se manifestam com produção de citocinas do tipo Th2 (BOMFIM *et al.*, 1996). No primeiro caso, escasso parasitismo sem doença manifesta; no segundo, doença manifesta intensamente com importante parasitismo. Entre os dois polos, identificam-se os pacientes com leishmaniose cutânea localizada com longo período de evolução, pacientes com lesões múltiplas e com a forma mucocutânea (LCM), apresentando resposta mista Th1/Th2 (CASTÉS; TAPIAS, 1998; BOMFIM *et al.*, 1996).

Os linfócitos T são elementos importantes da resposta imunológica na LT. A presença da subpopulação T CD8+ no sangue periférico é variável nas formas LCM e LCD (CASTÉS, TAPIAS; 1998); enquanto na forma LCL (leishmaniose cutânea localizada) tem baixa expressão (COUTINHO *et al.*, 1996).

Os linfócitos T CD8+ ativados podem destruir as células infectadas por meio da liberação de perforina (proteína que possibilita a entrada de enzimas tóxicas em células cancerígenas ou que foram infectadas por algum vírus) e granzima B (grânulo serino-protease do linfócito T citotóxico, liberado quando esta célula reconhece um antígeno estranho presente na superfície das células infectadas do hospedeiro) ou pela estimulação FasL (proteína transmembranar que pertence à família do fator de necrose tumoral), determinando a apoptose de células parasitadas. Ademais, estes linfócitos podem secretar citocinas como IFN γ , TNF α , IL-4, IL-10, TGF β e quimiocinas (MIP-1 α) (HARTY; TVINNEREIM; WHITE, 2000). Estas evidências sugerem que as células T CD8+ podem atuar como protetoras ao produzir IFN γ ou como exacerbadoras da doença ao produzir IL-10 ou TGF β (COUTINHO *et al.*, 1996).

Três interleucinas merecem destaque na patogênese da leishmaniose: A IL-10, responsável pela anergia transitória em 40% das LCL (ROCHA *et al.*, 1999), além de desativar o macrófago, permitindo a sobrevivência da leishmania no seu interior; A IL-12, que reverte a imunossupressão desencadeada pela IL-10 (ROCHA *et al.*, 1999), indutora da resposta tipo Th1 e ativadora de linfócitos T CD8+ (BRODSKYN; BEVERLY; TITUS, 2000); O TNF α , ativador de macrófagos, indutor da formação de granulomas e de NO, bem como desencadeador de apoptose (JOSEPH; MINER; CROFT, 1998; LIEW; LI; MILLOT, 1990).

2.6 Aspectos clínicos

A leishmaniose tegumentar expressa um amplo espectro de apresentação clínica, seja manifestando forma tegumentar pura, seja forma mucosa, sejam formas mistas, (WANKE *et al.*, 1991). Os estudos revelam que uma única espécie de leishmania é capaz de determinar diversas formas de leishmaniose; bem como uma determinada apresentação clínica poderá ser determinada por espécies diversas de leishmanias (PEARSON; SOUSA, 1994). O espectro clínico da LT poderá ser bizarro na duração como o de casos autóctones com duração de 28 anos (SILVA; PERYASSÚ, 1945); como formas excêntricas de apresentação em nódulos e placas hiperpigmentadas ou lingual (SILVA, 1945). Os quadros clínicos são a seguir descritos.

2.6.1 Infecção assintomática e oligossintomática

Quadro observado em pacientes que não manifestam as lesões clássicas, quando sim de forma frustrada, amiúde são indivíduos de zona endêmica com importante reação imunológica de padrão Th1, manifesta por altos níveis de interferon-gama, intradermorreação de Montenegro positiva, bem como resposta linfoproliferativa *in vitro* positiva a antígenos de leishmania (MAASHO *et al.*, 1998). Úlceras nestes pacientes são raras.

2.6.2 Leishmaniose cutânea localizada (LCL)

Esta forma, bastante comum no Brasil, caracteriza-se por lesão solitária ou, ocasionalmente, algumas poucas lesões na pele desprovida de proteção, no geral membros, em particular, os inferiores. O quadro inicial é de pápula ou nódulo no sítio da picada do flebótomo, posteriormente úlcera única de bordas elevadas, bem delimitadas e de fundo granuloso, raramente forma vegetações ou verrugas. Quando múltiplas, quase sempre ocorrem em virtude de várias picaduras de flebátomos. Não raro, este quadro é precedido por linfadenite granulomatosa (BARRAL *et al.*, 1995). É morbidade de curso crônico inclinándose à resolução espontânea sem tratamento, Figura 05 – A, (COSTA *et al.*, 1990).

2.6.3 Leishmaniose cutâneo-mucosa (LCM)

Esta forma caracteriza-se pela afetação mucosa, em geral rinofaringe, podendo envolver o palato, tonsilas e laringe. O comprometimento mucoso é precedido de lesão tegumentar, não tratada ou tratada de forma inadequada. A casuística no território brasileiro não é significativa. Cerca de 40% dos pacientes apresentam perfuração do septo nasal, com deformação do nariz que assume, não raro, forma de “focinho de anta” (PESSOA; MARTINS, 1978). Um curso fatal pode ser observado na vigência de infecções bacterianas secundárias do trato respiratório, Figura 5 – B, (WALTON, 1987).

2.6.4 Leishmaniose cutânea disseminada (LCDi)

Trata-se de forma com múltiplas lesões sequentes a disseminação, provavelmente por via hematogênica (COSTA *et al.*, 1986; CONVIT; VEGAS, 1965), a partir de foco infeccioso único de leishmaniose. As lesões têm aspecto papular ou acneiforme, podendo alcançar a casa das centenas por todo o corpo, inclusive mucosas. Trata-se de apresentação não frequente; cerca de 1% de todos os casos de leishmaniose tegumentar no Brasil, Figura 4 – D, (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

2.6.5 Leishmaniose cutânea difusa (LCD)

Menos comum, ainda, caracteriza-se por lesão em placa ou nodular inicial com disseminação, inclusive, não raro, para mucosas. Raramente se observa ulceração, tão-somente nos estados de completa anergia. O padrão de resposta imunológica é do tipo Th2, anérgica. Embora apresente espectro de apresentação, qualquer que seja não é responsiva ao tratamento. Figura 5 - C (SILVA, 1982).

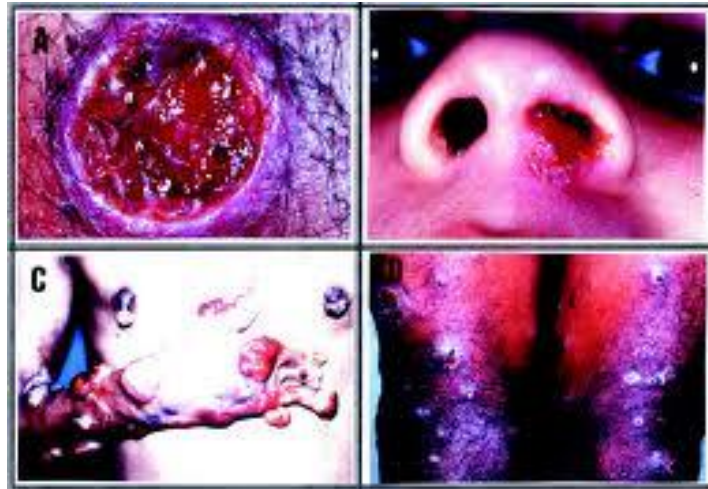


Figura 5 - Formas clínicas de leishmaniose cutânea.
Fonte: GONTIJO, 2003.

2.7 Padrões histológicos da leishmaniose tegumentar

A penetração do parasito nos tecidos dos vertebrados se dá em sua forma promastigota metacíclica infectante, juntamente com a saliva do flebótomo durante o repasto sanguíneo. Num período de quatro a oito horas, células fagocíticas presentes no foco da injúria, como macrófagos e células de Langhans, fagocitam os parasitos. A interiorização do parasito é mediada pelas proteínas LPG e gp63, presentes à superfície de todas leishmanias virulentas. Após a ingestão do parasito, há transformação deste para a forma amastigota, aparentemente mais resistente à ação das enzimas líticas lisossômicas. Parte destes parasitos é processada e encaminhada ao linfonodo satélite, outros são destruídos por lise, e outros ainda proliferam no interior dos fagócitos, destruindo-os e mantendo a replicação noutro macrófago. Além das células citadas, linfócitos T citotóxicos e do tipo TCD4⁺ e uma célula T, caracterizada pela expressão de TCD4⁺CD25⁺, podem ser avistados no momento inicial da infecção (POMPEU, 2001). As citocinas estão presentes nestes eventos: interferon-gama, interleucina 12, interleucina 10 e TGF-beta, dentre outras. As evidências apresentam um cenário morfofisiológico complexo, quadro este que assumirá um dos seguintes cursos na dependência da espécie de leishmania, sua virulência, do estado imunitário do hospedeiro, do tipo de célula e citocinas presentes no foco da injúria: 1- autorresolução; 2- ulceração; 3- lesões vegetativas. Delinear-se-á, portanto, um determinado padrão morfológico identificável à histologia, que poderá ser exsudativo agudo inespecífico, exsudativo crônico inespecífico e granulomatoso (RIDLEY *et al.*, 1980; MAGALHÃES; CHIARINI; RAICK, 1982). Os estudos demonstram que a resposta inflamatória na LT é de um modo geral inespecífica. A

epiderme frequentemente mostra pseudoepiteliomatose reacional (Figura 6-A). No derma, exsudato misto inespecífico (Figura 6-B), às vezes perivasculite linfoplasmocitária (Figura 7-A), menos usual granulomas com células gigantes multinucleadas (Figura 7-B). Pesquisas evidenciam que, em uma mesma lesão, pode-se encontrar mais de um padrão inflamatório, não se prestando, a histologia, como marcador para diagnóstico e classificação (RIDLEY; MAGALHÃES; MARSDEN, 1989; BITTENCOURT; BARRAL, 1991). O Montenegro, sorologia e histopatológico sem identificação do parasito, na ausência de contexto clínico e epidemiológico, não devem ser utilizados isoladamente para firmar diagnóstico de LTA (SILVA, 2004).

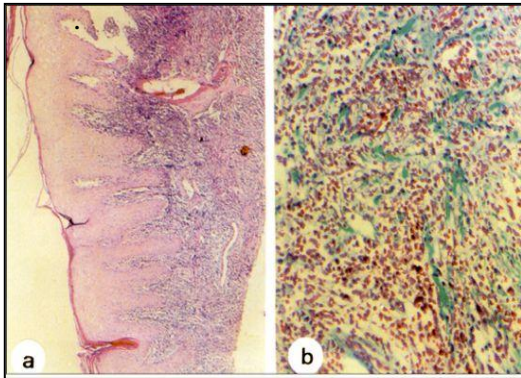


Figura 6 – Histopatologia da resposta inflamatória na LTA.
Fonte: BOTELHO, 1988.

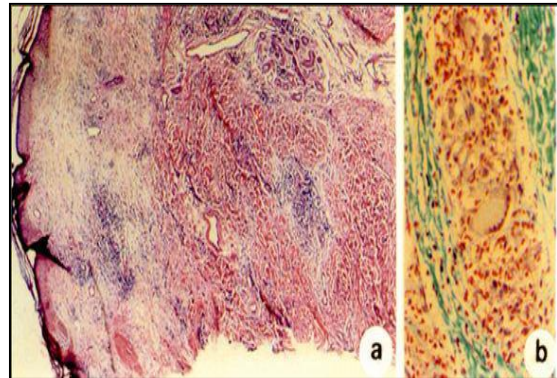


Figura 7 – Histopatologia da resposta inflamatória na LTA.
Fonte: BOTELHO, 1988.

2.8 Diagnóstico

O diagnóstico de LT apresenta um espectro que perpassa elementos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Em geral, há a necessidade de se utilizar mais de um dos critérios para se alcançar o diagnóstico de certeza (MANSON-BAHR, 1987). O diagnóstico clínico da LT é feito, amiúde, considerando-se as características da lesão, dentro de contexto anamênico, com elementos epidemiológicos assentados, considerando que a leishmaniose no Brasil mostra um amplo espectro de apresentação, o que torna o diagnóstico clínico nem sempre fácil (GUEDES; DE CARVALHO; MELO, 2008). A lesão primária é geralmente única, e, algumas vezes, pode exibir múltiplas lesões em função de várias picadas do vetor; menos frequente, a disseminação local pode produzir um número aumentado de lesões (MARZOCHI, 1992). A lesão aparece após um período de incubação variável de dez

dias a três meses, como uma pápula eritematosa que evolui lentamente para nódulo. Não raro, se acompanha de adenopatia satélite, com ou sem linfangite em 12% a 30% da casuística. O tempo revela um notável polimorfismo das lesões, variando de uma apresentação impetigosa, passando pela forma liquenóide, lupóide ou tuberculosa, quando não vegetante e, por fim a manifestação mais comum a da úlcera de bordas elevadas, crateriformes com fundo granuloso. A literatura descreve uma forma bubônica com importante linfadenopatia, precedendo em semanas o aparecimento da lesão ou não (SOUSA *et al.*, 1995).

Diversas entidades clínicas simulam A LT em seu quadro cutâneo e devem ser diferenciadas: úlceras de estase; úlceras traumáticas; úlcera tropical; piodermite erosivas; paracoccidiodomicose; dermatoses ulceradas na anemia falciforme; neoplasias cutâneas; sífilis e tuberculose cutânea. A apresentação virchowiana da lepra poderá simular a LCD. A LCM, quando não adequadamente investigada poderá ser confundida com rinoscleroma, boubá, sífilis secundária ou terciária e paracoccidiodomicose (MARKLE; MAKHOUL, 2004). As formas cutâneas com vegetações podem simular a esporotricose verrucosa, a cromomicose, a paracoccidiodomicose, a piodermite vegetante e a tuberculose verrucosa (FURTADO, 1994).

O diagnóstico de certeza somente se obtém pela demonstração do parasita, obtida mediante técnicas diversas parasitológicas de pesquisa direta e indireta. A técnica mais simples é a pesquisa direta do parasito em material obtido por escarificação, aspiração ou biópsia da borda da lesão, utilizando-se corantes Romanowsky. A probabilidade de se encontrar o parasita é inversamente proporcional ao tempo de evolução da lesão e a sensibilidade do método. Nas lesões determinadas por *L. braziliensis*, chega próximo aos 100% nas oito primeiras semanas da doença, em até 75% nos seis primeiros meses e menos de 20% acima dos 12 meses (FURTADO, 1980). O cultivo de leishmania é relativamente satisfatório em meios de cultura à temperatura ambiente (24-26 °C). O meio de cultura mais utilizado é o ágar-sangue de Novy e McNeal, modificado por Nicolle – NNN e suas diversas adaptações. A sensibilidade global do método está em torno de 50% para *L. braziliensis* (MELO, 1982). Em menor escala, utiliza-se a inoculação em animais de laboratório, preferencialmente o hamster (*Mesocricetus auratus*). A sensibilidade do método é variável, depende da espécie de leishmania. O tempo de procedimento é longo, inviabilizando sua utilização como rotina (ROJAS; SCORZA, 1995). Estudos realizados nas Américas e no Velho Mundo mostraram que a histopatologia não se presta como método primeiro de diagnóstico parasitológico (RIDLEY *et al.*, 1980). O diagnóstico histopatológico de certeza da LT só é possível mediante o achado dos parasitas. Caso contrário, as alterações

histopatológicas são, no máximo, sugestivas do diagnóstico. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método dotado de alta sensibilidade, capaz de detectar quantidades tão pequenas quanto um fentograma do DNA de uma leishmania, o equivalente a 1/10 do parasita (BRUJIN; BARKER, 1992). No Brasil, a técnica de PCR apresenta sensibilidade de 98,41% e especificidade de 95,59% (GONTIJO, 1997). Exigências técnicas, porém, e os custos elevados limitam seu emprego rotineiro. A intradermorreação de Montenegro (IDRM), preconizada por Montenegro em 1926, preparada com base em formas promastigotas de leishmania cultivadas, é ainda hoje amplamente empregado e útil (JOSÉ *et al.*, 2003). A IDRM detecta a presença de hipersensibilidade tardia, uma vez que, do ponto de vista imunológico, a LT se caracteriza por uma resposta celular durante e após a cura da infecção, seja de modo espontâneo ou após tratamento (CARVALHO *et al.*, 1995). Injeta-se, na face flexora do antebraço, 0,1ml de antígeno standardizado na concentração de 40 mg de nitrogênio protéico por ml. A reação é considerada positiva quando, na leitura de 48 ou 72 horas, detecta-se endureção igual ou superior a 05 mm. O teste se torna positivo em torno de quatro semanas após o início da lesão cutânea, mas não diferencia doença atual e pregressa; é habitualmente negativo nas formas cutâneas difusas e nos pacientes imunodeprimidos (GONTIJO; CARVALHO, 2003, JOSÉ *et al.*, 2001). A IDRM é de grande valor presuntivo no diagnóstico de LT, especialmente nas infecções pauciparasitárias e nos inquéritos epidemiológicos em áreas endêmicas. A IDRM apresenta positividade de 84% e 100%, estimada, nas formas cutâneas e mucocutânea, respectivamente, e negativa na forma cutânea difusa (SHAW; LAINSON, 1975). A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é o método sorológico mais utilizado (MARZOCHI *et al.*, 1980). Demonstra sensibilidade superior a 60% nas formas cutâneas, 100% na LCM e negativa na LCD; porém exibe baixa especificidade, podendo apresentar reação cruzada com doença de Chagas e calazar (KAR, 1995; MENDONÇA *et al.*, 1988). A positividade da sorologia é diretamente proporcional ao parasitismo. Após tratamento e cura, os títulos tendem a cair ou desaparecer em meses (CHIARI; MAYRINK; MAGALHÃES, 1973). O fluxograma de procedimentos diagnósticos pode ser apreciado na Figura 8.

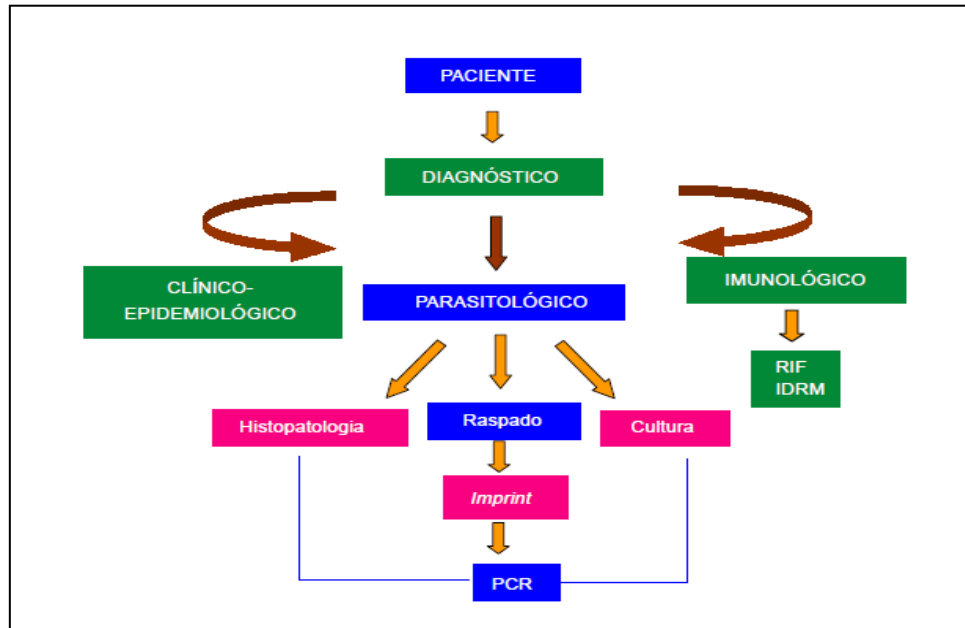


Figura 8 – Fluxo dos procedimentos diagnósticos na LT.
Fonte: GONTIJO, 2003.

2.9 Tratamento

Não obstante o elástico tempo de conhecimento da LT, especialmente no Velho Mundo, o tratamento efetivo só foi preconizado no século XX, por Gaspar de Oliveira Viana, em 1914. Três anos antes, 1911, Gaspar Viana havia descrito a *Leishmania braziliensis* ao examinar material de um paciente natural de Minas Gerais que se encontrava internado na 3ª enfermaria do Hospital Misericórdia, com envolvimento de face, braços e pernas (COSTA; 1992). Gaspar Viana preconizou o uso do tártaro emético (TE), já utilizado na Antiguidade como cosmético e no tratamento de outras enfermidades (DEMICHELI; FRÉZARD, 2005). O tártaro emético (Figura 10) é fármaco à base de antimônio trivalente, introduzido na literatura médica no século XVII por um padre jesuíta, Basil Valentine, que utilizou a droga para engordar padres jesuítas, sem sucesso (DOGAN; HOT, 2001). Trata-se de um pó branco, solúvel em água, já utilizado há tempos para morbidades diversas e como cosmético (RATH *et al.*, 2003), determinando náuseas e vômitos quando ingerido por via oral. Gaspar Viana passou a utilizá-lo por via endovenosa. Em função da toxicidade e graves efeitos colaterais associados ao emprego do TE, foi substituído por compostos estibiados pentavalentes (RATH *et al.*, 2003). Os antimoniais pentavalentes (Figura 09) foram introduzidos por Bramachari, em 1920, por meio do produto **ureia estibamina**, derivado uréico do ácido p-aminofenil estibínico. Dezesesseis anos depois, Schmidt introduziu na terapia médica o gluconato de

antimônio (V) sódico, conhecido comercialmente como Solustibosan® (Bayer) ou Pentostam® (Glaxo Wellcome), o primeiro pentavalente a ser usado no tratamento da LT (MARSDEN, 1985; BERMAN, 1988).

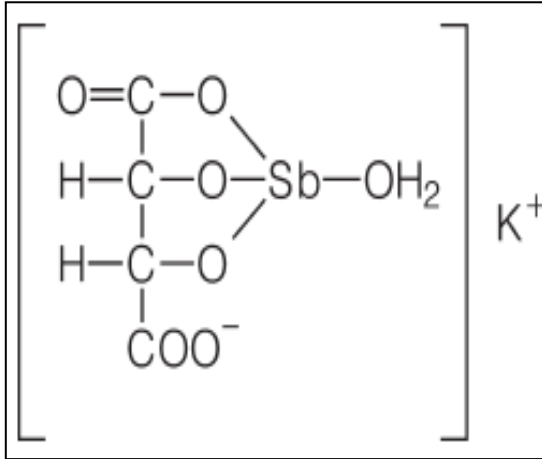


Figura 9 – Representação esquemática da fórmula do Tártaro emético.

Fonte: RATH *et al.*, 2003

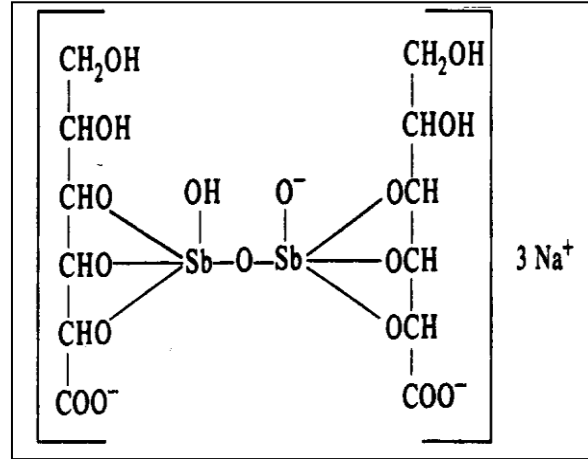


Figura 10 – Representação esquemática da fórmula dos antimoniais pentavalentes.

Fonte: RATH *et al.*, 2003

Surgiu, na França, em meio à segunda Guerra Mundial, um fármaco alternativo ao gluconato de antimônio-V sódico, o antimoniato de N-metil glucamina, comercializado como Glucantime® (Rhône-Poulenc-Rohrer) ou antimoniato de meglumina. Enquanto o Pentostam® continua distribuído, até hoje, nos países de língua inglesa, o Glucantime® é comercializado nos países de línguas francesa e espanhola, bem como no Brasil, sendo a droga de primeira escolha (RATH *et al.*, 2003).

Os estudos sugerem, como mecanismo de ação, que os pentavalentes, após penetrarem o organismo, passam por biotransformação para antimoniato trivalente, mais tóxico e letal para o parasita, ligando-se a polipeptídios, inibindo as enzimas da via glicolítica, da beta-oxidação e a DNA topoisomerase, além de determinar alterações na membrana plasmática parasitária, observadas por microscopia eletrônica (FRÉZARD; DEMICHELI; RIBEIRO, 2009; RATH *et al.*, 2003; HALDAR; SEN; ROY, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a dose do antimonial seja calculada em mg/SbV/Kg/dia. (SbV = antimônio pentavalente). O antimoniato de N-metilglucamina é comercializado, no Brasil, em frasco de cinco mililitros, que contém 1,5 g do antimoniato bruto, equivalente a 425 mg de SbV. Desta forma, cada ml contém 85 mg de SbV. Está indicado para tratamento de todas as formas de leishmaniose tegumentar. As formas mucosas necessitam maior atenção, considerando sua resposta mais lenta e maior

chance de recidivas (BRASIL, 2002). Cuidados locais devem ser tomados em face da possibilidade de infecção secundária nas lesões ulceradas.

O Ministério da Saúde recomenda para o uso do antimoniato de N-metilglucamina: a) nas formas cutâneas localizadas e disseminadas dose entre 10 a 20 mg/SbV/Kg/dia. Sugere-se 15 mg/SbV/Kg/dia, tanto para adultos quanto para crianças, durante 20 dias seguidos, aplicados IM ou EV, não devendo ultrapassar 15 ml (três ampolas) a dose diária. Se não houver cicatrização completa em três meses (12 semanas) após o término do tratamento, o esquema deverá ser repetido, prolongando-se, desta vez, a duração da série para 30 dias. Persistindo o insucesso terapêutico, deve ser utilizada uma das drogas de segunda escolha. Na forma difusa, a dose sugerida é de 20 mg/SbV/Kg/dia, durante 20 dias seguidos; b) em todas as formas de envolvimento mucoso, a dose recomendada é de 20 mg/SbV/Kg/dia, durante 30 dias consecutivos, preferencialmente em ambiente hospitalar. Se não houver cicatrização completa em três meses (12 semanas) após o término do tratamento, o esquema deverá ser repetido apenas uma vez. Pacientes não responsivos devem utilizar uma das drogas de segunda escolha (BRASIL, 2007).

Os efeitos colaterais mais frequentes são artralgia, mialgia, inapetência, cefaleia, febre, vômitos, tontura e inchaço no local da aplicação (CARVALHO; DOLCI, 2006). Estão descritas na literatura complicações como cardiotoxicidade, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade dos antimoniais, constituindo importante limitação ao uso seguro. Está indicada, portanto, aos pacientes, em especial os idosos, avaliação cardiológica prévia, evitando-se o uso desta formulação em cardiopatas, inclusive chagásicos, nefropatas e hepatopatas (CARVALHO, 2007). A literatura descreve como mais importante efeito adverso dos antimoniais a sua ação sobre o aparelho cardiovascular. Este efeito é dose e tempo-dependente, manifestando-se por distúrbio da repolarização (inversão e achatamento da onda T e aumento do espaço QT). Sugere-se a realização de eletrocardiograma semanal e de uma cuidadosa ausculta cardíaca diária, até o término do tratamento, sempre antes de cada aplicação, visando a detectar arritmias (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

Por serem abortivos, os antimoniais não podem ser administrados a gestantes (GONTIJO; CARVALHO, 2003), devendo-se utilizar a anfotericina B. As evidências demonstram a alta eficácia dos antimoniais, sendo a droga de escolha na África, América do Sul e Sudeste Asiático. Não obstante o sucesso dos antimoniais, o receio do aparecimento de resistência é um fato, considerando o uso irregular em algumas regiões (HALDAR; SEN; ROY, 2011).

Em meados de 1955, Gold, no Vale do Orinoco, descobre a anfotericina B em cultura de *Streptomyces nodosus* (actinomiceto aeróbio), antibiótico poliênico de reconhecida ação leishmanicida. Em 1959, Lacaz passa a utilizá-la como droga alternativa no tratamento da leishmaniose tegumentar. Os estudos demonstram que é a droga de segunda escolha no tratamento da LTA (MISHRA *et al.*, 1994), empregada quando não se obtém resposta ao tratamento com antimonial ou na impossibilidade de seu uso (FILIPPIN; SOUZA, 2006; THAKUR *et al.*, 1999.). As evidências revelam ser mais eficaz do que os antimoniais no tratamento das lesões mucosas (BERMAN, 1996). O mecanismo de ação se faz pela ligação, preferencialmente, aos ésteres (ergosterol ou episterol) presentes na membrana citoplasmática da *leishmania* (PANOSIAN *et al.*, 1984). No Brasil é apresentada em frascos de 50mg (Fungizone®) para uso exclusivo endovenoso. A dose inicial de 0,5 mg/kg/dia deve ser aumentada gradativamente, conforme a tolerância do paciente, até 1 mg/kg/dia. A administração deve ser feita em dias alternados, respeitando-se o limite máximo de 50mg (um frasco) por aplicação, até a dose total de 1,0g a 1,5g para LC, e de 2,5g a 3g para LCD ou LCM. O antibiótico deve ser diluído em soro glicosado (o soro fisiológico provoca inativação da droga) e infundido gota a gota. Para prevenção dos episódios de flebite, podem ser acrescentados 100 mg de hidrocortisona (BRASIL, 2002). Os efeitos colaterais mais comuns incluem náuseas, vômitos, febre, hipopotassemia, insuficiência renal, anemia e alterações cardíacas. A cardiotoxicidade e a nefrotoxicidade, além do uso EV, impedem seu uso fora do ambiente hospitalar, estando contraindicada em cardiopatas, nefropatas e hepatopatas (FILIPPIN; SOUZA, 2006; LANIADO-LABORÍN; CABRALES-VARGAS, 2009).

A formulação lipossomal (anfotericina B lipossomal) trata-se de nova formulação em que a anfotericina B é alocada no interior de lipossomas associados a fosfatidilcolina, colesterol e disterolfosfatidilglicerol. Esta droga atinge níveis plasmáticos mais elevados do que a anfotericina B tradicional. A meia-vida é mais curta em função do rápido sequestro por macrófagos residentes no fígado e baço, onde atinge elevadas concentrações (ADLER-MOORE; PROFFITT, 2002). No Brasil, encontra-se disponível com o nome comercial de Ambisome®, com registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para uso no tratamento da leishmaniose visceral (HUEB, 2004). Não existe registro para uso na LT. O Ministério da Saúde do Brasil sugere a aplicação de 1 a 4 mg/kg/dia diariamente por infusão venosa, em dose única, sem limite de dose diária até atingir as seguintes doses totais, para a forma cutânea: 1 a 1,5g; para a forma mucosa: 2,5 a 3g (SAMPAIO; MARSDEN, 1997). Os efeitos colaterais e as recomendações são as mesmas da anfotericina B tradicional (BRASIL, 2007).

Poucos estudos foram realizados nas Américas utilizando as pentamidinas na terapêutica da LT. Não obstante, é preconizada como droga de segunda escolha (sulfato de pentamidina e mesilato de pentamidina) nas Américas, Ásia e África (TALHARI, 1985). O mecanismo de ação envolve sua ligação ao DNA do parasito, inibindo a dihidrofolato reductase, por conseguinte, não permitindo a replicação parasitária. É excretada lentamente e sequestrada nos tecidos. As manifestações adversas usuais são dor, endureção e abscessos estéreis no local da aplicação, náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaleia, hipotensão, lipotimias, hipoglicemia e hiperglicemia (HELLIER *et al.*, 2000). As alterações determinadas na glicemia contraindicam seu uso em diabéticos (SANDS; KRON; BROWN, 1985). A dose preconizada é de 4mg/kg/dia, por via intramuscular profunda, de dois em dois dias, recomendando-se não ultrapassar a dose total de 2g (COSTA, 1993; BRASIL, 2007).

Portadores de coinfeção leishmaniose e HIV, quando da forma cutânea localizada ou disseminada, devem ser tratados com os pentavalentes em primeira escolha, antimoniato de N-metilglucamina, 15 mg/kg/dia, durante 20 dias devendo ser acompanhados por três meses. Como segunda escolha, as formulações de anfotericina ou pentamidinas na dose padrão recomendada. Na forma mucosa, a droga de escolha é a anfotericina na posologia de 01 mg/kg/dia (SINHA; PANDEY; BHATTACHARYA, 2005).

Considerando a toxicidade e os efeitos colaterais dos antimoniais, das anfotericinas e das pentamidinas, bem como resistência de algumas cepas de *Leishmania* a essas drogas, um dos grandes problemas relacionados ao tratamento com os antimoniais (BERMAN, 1988; BLUM *et al.*, 2004; CROFT; SUNDAR; FAIRLAMB, 2006), buscam-se formulações outras com a mesma ou melhor eficácia e complicações mínimas. Associação de drogas para minimizar o tempo e/ou potencializar o efeito é descrita. Em casos refratários ou com contraindicações das drogas tradicionais, no tratamento da LT, esquemas alternativos são descritos: antimoniais pentavalentes em doses baixas ou elevadas, ou por via intralesional, associação do antimonial pentavalente com pentoxifilina, ou antimonial pentavalente em conjunto com o alopurinol, antimonial pentavalente com sulfato de aminosidina, antimonial pentavalente com sulfato de paramomicina (COSTA, 1999), antimonial pentavalente e imunoterápicos (IFN – γ ou Leishvacin® e alopurinol) (BRASIL, 2007).

Nos anos 1960, 1970 e 1980, drogas como metronidazol, tuberculostáticos (rifampicina e isoniazida), pamoato de cicloguanil, nitrofuranos (nifurtimox), trimetropim-sulfametoxazol e dapsona foram testadas no tratamento da leishmaniose, apresentando eficácias variadas, não sendo possível recomendá-las para a terapia de rotina em função dos dados duvidosos (BERMAN, 1988).

Diversas outras drogas são utilizadas como alternativa no tratamento da LT. Os dados são controversos. Estudos *in vitro* (COSTA FILHO; LUCAS; SAMPAIO, 2008) e *in vivo* (SOTO *et al.*, 2001) com a miltefosine mostram resultados satisfatórios. Trata-se de um antineoplásico que tem ação eficaz sobre as leishmanias (SCHIMDT-OTT *et al.*, 1999). Atua interferindo na membrana celular do parasita, sem interagir com o DNA, modula a composição lipídica, a permeabilidade e fluidez da membrana, assim como o metabolismo de fosfolípídios, induzindo morte celular por apoptose (PARIS *et al.*, 2004). Usos tópico e oral são testados com relativo sucesso (SOTO *et al.*, 2001). No Brasil, o seu uso não ultrapassou os órgãos competentes que autorizam o uso comercial para o tratamento da LT.

Tratamentos alternativos são utilizados com itraconazol, cetoconazol e, mais recentemente, azitromicina. Não obstante os resultados promissores de algumas destas drogas, os estudos realizados utilizaram um pequeno número de pacientes; foram publicados como relatos de casos ou com um desenho de estudo não adequado (BLUM *et al.*, 2004; OUELLETTE *et al.*, 2004; SILVA-VERGARA *et al.*, 2004; ZERPA *et al.*, 2006).

O tratamento local da leishmaniose cutânea há tempos é utilizado. No final do século XIX, o ácido láctico puro era colocado sobre as lesões para provocar abrasão. Posteriormente, sulfato de cobre, calor e até ácido de bateria voltaica velha foram utilizados como abrasivos (TORRES, 2009). Técnicas físicas, como cauterização, irradiação local e congelamento já foram usadas e ainda o são, porém não são recomendadas como rotina (BLUM *et al.*, 2004; COOK, 1993; ALRAJHI, 2003; BASSIOUNY, 1982). Outros tratamentos locais são citados na literatura, como o calor, que, aplicado de maneira cautelosa, se mostra eficaz para curar lesões cutâneas causadas por *L. mexicana* (NAVIN *et al.*, 1990; VELASCO-CASTREJON *et al.*, 1997; OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1997; ASTE *et al.*, 1998). Algumas preparações tópicas, como sulfato de berberina, mepacrina, metronidazol, emetina hidrocloreata, clorpromazina e paromomicina, também já foram testadas (COOK, 1993, ALRAJHI, 2003; MUSSI; FERNANDES; FERREIRA, 2007). Destaca-se, entre as citadas, a do aminoglicosídeo paramomicina (aminosidina), apresentando resultados variados e eficácia não comprovada em diferentes espécies de *Leishmania*, no Velho e no Novo Mundo (SALAH *et al.*, 1995; BERMAN, 1996; NEVA *et al.*, 1997; SOTO *et al.*, 1998). Apesar da administração intralesional de antimonial mostrar-se eficaz, existem algumas inconveniências nesse tipo de tratamento, as injeções devem ser administradas ininterruptamente por mais de um mês; cada lesão tem que ser tratada individualmente e a droga tem que ser infiltrada de forma profunda, já que as formas amastigotas de *Leishmania* residem profundamente na derme, não sendo a leishmaniose tegumentar uma doença superficial, como as infecções

causadas por dermatófitos. Amastigotas de *Leishmania* se disseminam da derme para o sistema linfático e membranas mucosas, sendo consenso o fato de que a terapia local pode não curar a infecção no linfonodo ou proteger contra a doença mucosa.

As leishmanias, à semelhança de alguns fungos, utilizam vias metabólicas comuns, como a da síntese dos esteróis, importantes na manutenção das membranas celulares. Deste modo, o crescimento destes organismos torna-se suscetível aos inibidores da síntese de esteróis (ROBERTS *et al.*, 2003). O Fluconazol®, um fungistático, inibidor da síntese do ergosterol (NOBRE *et al.*, 2002), se mostra droga promissora no tratamento de algumas espécies de leishmanias causadoras de doença cutânea. Os estudos apontam para uma possível ação inibitória do complexo enzimático p-450, elemento importante na síntese do ergosterol, via inativação da enzima 14 α -desmetilase, bloqueando a desmetilação do lanosterol e/ou do 24,25 dihidrolanosterol (ALRAJHI *et al.*, 2002; HART *et al.*, 1989). Os estudos *in vitro* com Fluconazol® demonstram um efeito inibitório importante em formas promastigotas da *Leishmania donovani*, em algumas subespécies de *Leishmania braziliensis* e um efeito discreto ou nulo nas *Leishmania aethiopica*, *Leishmania major*, *Leishmania tropica* e *Leishmania mexicana* (BEACH; GOAD; HOLZ, 1988). Além de ter sido usado como droga profilática pós-tratamento em um paciente transplantado que desenvolveu leishmaniose visceral, tratado satisfatoriamente com antimonial e anfotericina B (HORBER *et al.*, 1993), o Fluconazol® é descrito em ensaios isolados, com pequeno grupo de pacientes ou como relato de caso em humanos com resultados controversos (SOUSA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2007; MORIZOT; DELGUIUDICE; CAUMES, 2007). Ensaios no Velho Mundo, bem-sucedidos, foram realizados para tratar pacientes portadores de *L. tropica* e *L. major*, por via oral, na concentração de 100-200 mg/dia (SUNDAR; RAI, 2002; BERMAN, 2003, 2005; LAFFITTE; GENTONB; PANIZZON, 2005; MINODIER *et al.*, 2005). Um estudo randomizado, duplo-cego, realizado em Al-Ahsaa e Riyadh, na Arábia Saudita, utilizando Fluconazol® na dose de 200 mg/dia por seis semanas, por via oral, para tratar leishmaniose cutânea causada por *L. major*, mostrou uma eficácia de 79%; o tempo de cura também foi menor no grupo que tomou Fluconazol® em relação ao placebo (ALRAJHI *et al.*, 2002). Ensaios no Novo-Mundo são observados na literatura (MONTE NETO, 2006; SOUSA *et al.*, 2001)

Trata-se de um antifúngico de amplo espectro, um triazol, desenvolvido pela Pfizer e aprovado para uso no início de 1990, encerra muitas das deficiências dos imidazóis. É altamente solúvel em água e pode ser administrado por via intravenosa a doentes graves. Após administração oral, a absorção é essencialmente completa (90% de biodisponibilidade) e não é

influenciada pelo pH gástrico. Penetra satisfatoriamente o líquido cefalorraquidiano (LCR), com níveis no LCR de quase 80% dos níveis correspondentes ao do soro. A meia-vida sérica permite uma administração diária, sendo excretado em 70-80%, especialmente, via renal, com a droga inalterada. O Fluconazol® é relativamente seguro, mesmo em doses diárias de até cerca de 1600 mg, e não interfere com a síntese de testosterona ou cortisol. Possui baixa interação medicamentosa e as principais reações adversas são cefaleia, tontura, náuseas e vômitos, além de dor abdominal, diarreia ou constipação, mais raramente convulsões. O entusiasmo inicial para o Fluconazol®, no entanto, foi contestado por dois acontecimentos recentes: o espectro de patógenos fúngicos em evolução e no desenvolvimento de azol-resistência (MAERTENS, 2004). O tratamento, para micoses, é realizado no curso de duas semanas de 150 mg / dia para a candidíase vulvovaginal, de 150-300 mg uma vez por semana para infecções cutâneas resistentes ou algumas indicações profiláticas. Uma dose de 500-600 mg / dia pode ser utilizado para infecções sistêmicas ou grave e, em infecções urgentes, tais como a meningite provocada por levedura, 800 mg / dia tem sido utilizado. Doses pediátricas variam de 6-12 mg / kg / dia (MISAN, 2006).

Dados não publicados mostram que no Hospital São José de Doenças Infecciosas (Fortaleza – Ceará), no período de 2006 – 2008, tratamento com Fluconazol® foi utilizado como alternativa ao Glucantime® em alguns pacientes idosos, pelos riscos de efeitos colaterais, ou em pacientes com dificuldades em tomar medicação injetável, por questões logísticas (distância entre a residência e a unidade de saúde) ou por não aceitarem o Glucantime®. Ao todo dez pacientes, com idade variando de cinco a 88 anos e com diagnóstico de leishmaniose tegumentar confirmado parasitologicamente, foram tratados com a dose de aproximadamente 7 mg/Kg/dia para crianças até 18 anos de idade e de 300 – 400mg/dia para os adultos. Dos dez pacientes, 09 (90%) apresentaram cura com 7,2 semanas (5,8 – 13 semanas), sem recidiva. Uma paciente não externou resposta, tendo sido tratada com anfotericina B lipossomal. Posteriormente, uma série de casos tratados no aludido hospital, tratamento bem-sucedido com Fluconazol® foi publicado (SOUSA *et al.*, 2011).

Diversos ensaios foram elaborados testando vacinas, sem o sucesso esperado. A explicação estaria na falta de completo entendimento dos mecanismos envolvendo a imunopatologia e a biologia das diversas cepas de leishmania (HANDMAN, 2001). No Brasil, algumas tentativas são praticadas, destacando-se as realizadas pela BIOBRAS, que produziu uma vacina com resposta predominantemente de células CD8+ (MENDONÇA *et al.*, 1995). O alvo da investigação moderna em relação a vacinas é o uso de proteínas

recombinantes, parasitas vivos atenuados e vacinas de DNA, considerando que uma boa vacina contra a leishmaniose deve apresentar estrutura molecular bem definida e capaz de induzir memória imunológica na ausência de organismos vivos persistentes. Ademais, essa vacina não deve induzir respostas do tipo Th2, que no caso da leishmaniose, é deletéria e pode desencadear um quadro severo (HANDMAN, 1997). Não se dispõe de tal elemento até a presente data.

Imunomoduladores são utilizados como auxiliares no tratamento da LT. Destacam-se o interferon γ humano recombinante (Rhifn-g®) e o antagonista de IL-10 (EL-ON, 2009). Ressalte-se que eles não substituem a terapia convencional preconizada pela OMS e adotada pelo Brasil.

2.10 Critérios de cura da leishmaniose tegumentar

O critério de cura é clínico. Recomenda-se acompanhamento mensal por três meses consecutivos e, após a cura clínica, seguimento até 12 meses após o término do tratamento. Na forma cutânea, o critério de cura é definido pelo aspecto clínico das lesões: reepitelização das lesões ulceradas ou não ulceradas, regressão total da infiltração e eritema, até três meses após a conclusão do esquema terapêutico (Figura 11). E na forma mucosa é definido pela regressão de todos os sinais e comprovado pelo exame otorrinolaringológico, até seis meses após a conclusão do esquema terapêutico (BRASIL, 2007).



Figura 11 – Lesão de LT inicial e tratada.

Fonte: BRASIL, 2007.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia terapêutica do Fluconazol® em pacientes com leishmaniose tegumentar Americana.

3.2 Objetivos específicos

Estudar a atividade terapêutica do Fluconazol®, via oral, na dose de 300 e 450 mg/dia, por seis semanas em pacientes com leishmaniose tegumentar americana.

Comparar a eficácia e o tempo de cura do tratamento com Fluconazol® em relação à droga padrão (Glucantime®).

Avaliar os efeitos colaterais associados ao Fluconazol®.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de estudo prospectivo, randomizado, visando a avaliar a eficácia terapêutica do Fluconazol®, via oral, em altas doses, em portadores de leishmaniose tegumentar americana causada pela *Leishmania (V.) braziliensis*. O estudo apresentou rigor técnico, seguiu todas as normas de biossegurança referentes a trabalhos com seres humanos e com a doença sob exame. O trabalho abrigou todas as normas éticas de pesquisa *in anima nobili*, seguindo orientação da Resolução CNS 196/96, inclusive resguardando nomes e os dados pessoais dos indivíduos da pesquisa. Os pacientes foram informados sobre o estudo e receberam as explicações sobre o objetivo principal do trabalho, os procedimentos aos quais foram submetidos e a garantia de confidencialidade de suas informações e exames. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram voluntariamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APENDICE B), elaborado especificamente para esta pesquisa (BRASIL, 1996). O projeto original foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas - HSJ/Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, e apreciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Curso de Medicina, em Barbalha, da Universidade Federal do Ceará (UFC). Início em julho de 2009 e término em dezembro de 2011.

4.1 Caracterização dos indivíduos da pesquisa

Os pacientes procederam do ambulatório de Patologia Tropical do Curso de Medicina da Universidade Federal do Ceará, em Barbalha. O Ambulatório faz parte da estrutura de saúde da Secretaria de Saúde de Barbalha, município do sul do Estado do Ceará, localizado na região metropolitana do Cariri, às margens da chapada do Araripe, a 414 metros de altitude e distante 610 quilômetros de Fortaleza. As tutelas administrativas e técnicas ficam a cargo do Curso de Medicina da UFC em Barbalha, sede do Ambulatório. Os pacientes obedeceram aos critérios descritos na sequência.

- CRITÉRIOS DE INCLUSÃO - homens ou mulheres, com idade igual ou acima de 18 anos, apresentando lesão com confirmação parasitológica para **leishmaniose** e sem tratamento prévio, que concordassem em participar do estudo, assinando o Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

- CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO - homens ou mulheres menores de 18 anos, grávidas ou em período de amamentação, pacientes com doenças cardíacas, doença hepática (ou apenas elevação das enzimas, TGO, TGP), doença renal, portadores de HIV; e pacientes que já tivessem desenvolvido a forma mucosa de LTA e não concordassem em participar do estudo.

4.2 Diagnóstico parasitológico

Após assepsia da pele com álcool iodado (comercial, marca “Deshydrater”) e anestesia local com lidocaína 1% (comercial, marca Xylestesin®, laboratório Cristália) foram realizadas biopsias (três fragmentos) com *punch* de 02 mm na borda da lesão, em local sem aparente infecção secundária. Um fragmento de 02 mm foi cultivado em meio de cultura NNN, preparado segundo a técnica-padrão que foi modificada (PESSOA; MARTINS, 1978); outro foi utilizado para *imprints* e o terceiro fixado em formol tamponado a 10%, para exame histopatológico, segundo técnica-padrão (MICHALANY, 1998; TOLOSA *et al.*, 2003) e para estudo imuno-histoquímico.

Os esfregaços obtidos foram corados com Giemsa, segundo técnica-padrão (MICHALANY, 1998), e examinados em busca de formas amastigotas de *Leishmania*. Para as culturas, o material coletado foi inoculado em meio NNN contendo Schneider, suplementado com 20% de soro bovino fetal, 2% de urina humana estéril, e 100 µg de gentamicina/ml. As culturas foram incubadas a 26°C por quatro semanas em BOD (marca Quimis - Q315M) e examinadas semanalmente, investigando-se a presença das formas promastigotas de *Leishmania*. As culturas positivas para *Leishmania* foram subcultivadas com repiques periódicos.

O material fixado em formol tamponado foi processado, sendo confeccionadas três secções histológicas, uma corada pela hematoxilina e eosina, segundo técnica-padrão (MICHALANY, 1998; TOLOSA *et al.*, 2003); a segunda secção foi corada pelo Giemsa, segundo técnica-padrão (TOLOSA *et al.*, 2003), e o terceiro corte submetido a imuno-histoquímica.

A avaliação imuno-histoquímica para identificação de leishmania nos tecidos, foi realizada em cortes de quatro micrômetros montados em lâminas silanizadas (Dako - lâminas silanizadas nº S3003), desparafinizadas em xilol e etanol, seguidas de hidratação. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com soro de porco, seguindo-se da recuperação antigênica em banho-maria a 96° C, com tampão citrato (Dako, solução de

recuperação de antígeno); na sequência, realizou-se a inibição das ligações específicas com leite desnatado (30 ml TRIS + NaCl + 0,3 g de albumina bovina Merck + 0,3 g de leite Mólico em pó desnatado). Seguiu-se a incubação com anticorpos primários anti-leishmania (produzidos no Instituto Evandro Chagas, com base de promastigotas de *Leishmania chagasi* - MHOM / BR / 1974/PP75), policlonais, na diluição de 1 / 4000 com um redutor de ligações inespecíficas (*Dako Unspecific Bond Reducer*) em câmara úmida por 30 minutos. Na sequência, utilizou-se anticorpo secundário biotinilado (kit LSAB DAKO). Para a revelação do anticorpo primário, foi empregado como cromógeno a diaminobenzidina, sendo contrastada com hematoxilina de Harris (DUARTE; ROCHAEL, 2006). Foram utilizados controle positivo e negativo.

4.3 Definição dos grupos e tratamentos

O estudo foi randomizado, tendo dois grupos de tratamento, compostos de 60 pacientes cada grupo. O cálculo da amostra (n) baseou-se no **Teorema do Limite Central**, que preconiza amostras de mais de 30 observações, para variáveis contínuas; a distribuição das médias é gaussiana: **normal** (JEKEL; KATZ; ELMORE, 2005).

Praticou-se randomização permutada em blocos. Em uma caixa, foram depositadas 20 fichas; cada metade das fichas tinha cor diferente. A cor azul foi definida como Grupo I e a cor vermelha como Grupo II. Cada paciente que preencheu os critérios de inclusão retirou, aleatoriamente, uma ficha para definir em qual grupo estaria incluído.

Grupo I – os pacientes foram tratados com Fluconazol® (Laboratório PRATI-DONADUZZI – indústria de medicamentos nacional, localizada no Estado do Paraná); caixas com 100 cápsulas gelatinosas duras fornecidas pela Secretaria de Saúde do Município de Barbalha, na dosagem de 300 ou 450 mg/dia. 300 mg foram administradas aos pacientes com peso menor ou igual a 50 kg e 450mg para os pacientes com peso superior a 50 kg. Pacientes receberam 126 ou 168 cápsulas de Fluconazol® na concentração de 150 mg/cápsula, respectivamente, tendo que ingerir duas ou três cápsulas de uma só vez pela manhã. O número de cápsulas fornecidas foi em quantidade suficiente para um tratamento de seis semanas (42 dias consecutivos).

Grupo II – os pacientes foram tratados com Glucantime® (fornecido pela Secretaria de Saúde de Barbalha) na dose de 20mg/kg/dia. Efetuou-se tratamento por 20 dias consecutivos, por via intravenosa, durante 30 minutos de aplicação. O fármaco foi diluído em soro

glicofisiológico, 250 ml, em ambiente ambulatorial. Os pacientes receberam as ampolas correspondentes a 20 dias de tratamento.

4.4 Acompanhamento e ensaios laboratoriais

Foram realizados retornos com 20, 40, 60 e 90 dias.

Antes do tratamento, os pacientes submeteram-se a exame físico completo. Em seguida, colheu-se sangue por punção venosa em tubos do tipo BD Vacutainer® (tampa roxa) para hemograma; do tipo BD Vacutainer® (tampa vermelha e cinza) para testes de função hepática (TGO e TGP), função renal (ureia e creatinina), e dosagem de glicose. Seguiu-se a realização do teste de Montenegro, reagente obtido do CPPI (Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos – Secretaria de Saúde do Estado do Paraná); frascos com um ml de *Leishmania (L) amazonensis*, na concentração de 40µg/ml de nitrogênio proteico. Foi aplicado 0,1 ml, intradérmico, com seringa hipodérmica estéril na face anterior do antebraço direito, após assepsia com álcool 70%. Procedida a avaliação após 72 horas, leitura realizada com paquímetro de metal, marca Azehheb. Por fim, um ECG (aparelho marca Cirucam) registrando todas as derivações foi retirado.

Durante o tratamento, foram realizados, em dois tempos (no meio e final do tratamento), dosagens de ALT, AST, ureia e creatinina (todos com *kits* enzimáticos da LABTEST - Brasil) em todos os pacientes e um ECG a cada retorno para os usuários de Glucantime®, durante todo o tratamento com o antimonial e, sumário de urina com análise padrão. Os possíveis efeitos colaterais observados pelos pacientes foram anotados durante cada retorno. Os hemogramas foram realizados por um citômetro automatizado ABX PENTRA 60, com controle de qualidade interna e externa. Os ensaios em bioquímica foram executados por espectrofotômetro automatizado LABMAX – 240 da LABTEST, com controle de qualidade externa e interna.

Os pacientes foram avaliados pelo pesquisador responsável durante o acompanhamento clínico, utilizando-se de protocolo próprio (APÊNDICE A), e por um observador cego (médico clínico do ambulatório), que registrou a evolução clínica e os efeitos colaterais no prontuário convencional do paciente. O número e a aparência das lesões foram descritos por ambos. O tamanho (medição com paquímetro em milímetros) e a localização (CABEÇA, MEMBROS SUPERIORES, MEMBROS INFERIORES, TRONCO ou MISTO) em cada um dos pacientes de ambos os grupos foram registrados. Um registro fotográfico da

evolução das lesões, com máquina digital (12 megapixels), foi confeccionado. Lesões com infecções secundárias foram tratadas com antibióticos tópicos ou, quando necessário, com um antibiótico sistêmico (azitromicina). Os pacientes foram examinados até a cicatrização total da(s) lesão (ões), sem evidências de atividade inflamatória, sendo este o critério de cura (BRASIL, 2007).

4.5 Análises estatísticas

Para a montagem do banco de dados, foi utilizada uma planilha eletrônica, Excel, da **Microsoft Corporation 2010**©, licenciada. As análises estatísticas foram praticadas no Programa **SPSS**©, versão 17.0, licenciado. O programa **GraphPad Prism**©, versão 3.0, licenciado, foi utilizado para a confecção de gráficos e cálculos. A estimativa da **eficácia terapêutica** foi obtida por meio do cálculo da **redução de risco relativo**. O Teste *t* de Student foi aplicado para comparar, nos dois grupos, as médias de variáveis contínuas. O nível de correlação de dados paramétricos foi avaliado pelo coeficiente de correlação de Pearson (*r*). O tempo de cura de cada grupo teve sua avaliação realizada pelo método de Kaplan-Meier. Em todos os testes de hipótese, o α foi considerado significativo quando menor do que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Foram estudados 120 pacientes portadores de leishmaniose tegumentar americana causada por *Leishmania (V.) braziliensis*, diagnóstico firmado por identificação do parasito em pelo menos um dos três métodos parasitológicos utilizados, e a intradermoreação de Montenegro (Tabela 01, Figura 12). Sessenta pacientes fizeram uso primário de Fluconazol® e 60 uso primário de Glucantime®, segundo critérios de inclusão previamente descritos. Todos os pacientes foram avaliados no Ambulatório de Patologia Tropical do Curso de Medicina da UFC, em Barbalha. O ambulatório é parceria de gestão participativa, administrativa e técnica, consolidada em convênio do Município de Barbalha, representado pela Secretaria de Saúde do Município e a Universidade Federal do Ceará. Parceiros nestas atividades estão a Secretaria de Saúde do Estado do Ceará e o Ministério da Saúde do Brasil. O Serviço é a referência no Município de Barbalha no trato de doenças infecciosas e parasitárias, onde as unidades básicas e secundárias de saúde referenciam seus pacientes suspeitos, especialmente leishmaniose em todas as suas formas.

Tabela 1 - Métodos diagnósticos da LT e sua expressão, positivas ou negativas.

MÉTODO	FLUCONAZOL		GLUCANTIME	
	POSITIVO (n) (%)	NEGATIVO (n) (%)	POSITIVO (n) (%)	NEGATIVO (n) (%)
HISTOPATOLÓGICO	38(63,7%)	22(37,5%)	31(51,6%)	29(48,4%)
imuno-histoquímica	28(46,6%)	10(16,6%)	25(51,6%)	06(10,0%)
Giemsa	10(16,6 %)	28(46,6%)	06(10,0%)	25(51,6%)
IMPRINT	58(96,7%)	02(03,3%)	59(98,3%)	01(01,7%)
CULTURA	38(63,7%)	22(37,5%)	41(68,3%)	19(31,7%)
MONTENEGRO	56(93,3%)	04(06,7%)	55(91,6%)	05(08,4%)

Fonte: dados da pesquisa.

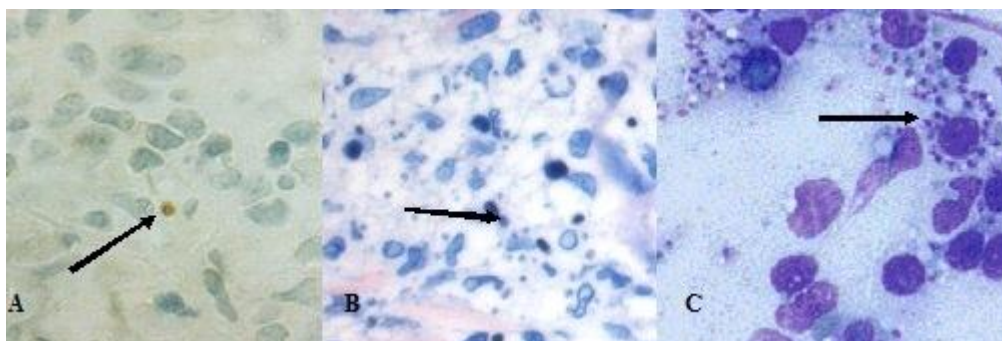


Figura 12- Leishmanias observadas pela Imuno-histoquímica (A), Histopatológico - Giemsa (B) e pelo Imprint (C) em material oriundo de portadores de LT. Fonte: dados da pesquisa.

Os pacientes estudados eram naturais do Município de Barbalha, residindo desde o nascimento, sem registro de viagens; predominantemente na zona rural, em ambos os grupos (Tabela 02). Em sua maioria, eram mulheres, no grupo do Fluconazol® n= 34 (56,7%), e em igual número no grupo de estudo que usou o Glucantime n=30 (50,0%). Trata-se de população essencialmente rústica, com idade média entre os 30 e 40 anos (Grupo I, média de 41 anos; Grupo II, média de 33,7 anos). A diferença de idade entre os dois grupos foi avaliada pelo Teste *t* de Student, cujo resultado para um $p < 0,05$ foi de 0,032, resultado que caracteriza tratar-se de duas populações distintas, no tocante à idade. Os grupos estudados se constituíam de agricultores residentes na encosta da chapada do Araripe, região de clima tropical do tipo quente semiárido, com floresta ombrófila, abrigando rica fauna flebotômica (SILVA, 2004). Estudantes, domésticas e comerciantes representaram as demais ocupações; na Tabela 02, identificada como outros. No geral, procuraram os serviços de saúde, para assistência médica, em média, após quatro semanas de evolução da lesão (Grupo I n= 4,9 semanas; Grupo II n= 4,6 semanas). Pôde-se observar em ambos os grupos pacientes com até três meses de evolução da lesão cutânea (Tabela 02). Não houve pacientes que procuraram assistência médica com menos de uma semana nas duas populações estudadas. O tempo mínimo foi de uma semana no Grupo I e duas semanas no Grupo 02.

Todos os pacientes da pesquisa apresentavam somente lesões ulceradas clássicas de tamanhos e números variados, situadas em geral nos membros (Tabela 02). As úlceras foram medidas com paquímetro, sendo mensurado o maior eixo. Quando de pacientes portadores de úlcera única o tamanho era unitário, contudo em portadores de múltiplas úlceras o tamanho final se configurava pelo somatório do tamanho destas. Os portadores de leishmaniose apresentavam-se com queixa de lesão ulcerada, acompanhada ou não de linfadenopatia satélite. Por vezes, esta linfadenopatia estava acompanhada de episódios de febre, com calafrios, antecedendo em dias a ulceração. O número de úlceras, em ambas as populações, variou de um a 20, como pode ser observado na Tabela 02. No Grupo I, a média de lesões ficou em torno de 1,4, no Grupo II em torno de 1,7 (Tabela 02). O tamanho das lesões, medidas em milímetros, variou de um mínimo de 8,2 mm e um máximo de 113,5 mm, no Grupo I (Figura 13); no Grupo II, o tamanho mínimo foi de 8,0 mm e o máximo de 190,6mm (Figura 13). Após exame físico e exames laboratoriais, observou-se uma fraca associação com comorbidades, sobressaindo-se a hipertensão arterial, observada em 12 pacientes, 07 em tratamento com Fluconazol® (Tabela 03). Não houve alterações laboratoriais importantes de interesse clínico (Tabela 04).

Tabela 2 - Variáveis epidemiológicas e suas distribuições em pacientes portadores de Leishmaniose Tegumentar.

VARIÁVEIS	Drogas	
	Fluconazol n(60)	Glucantime n(60)
Mulher	34 (56,7%)	30(50,0%)
Homem	26 (43,3%)	30(50,0%)
Rural	57 (95,0%)	60(100,0%)
Urbana	03 (05,0%)	-
Agricultor	20 (33,5%)	22(36,6%)
Agricultora	08 (13,3%)	02(03,3%)
Estudante(M)	08(13,3%)	07(11,6%)
Estudante(H)	03(05,0%)	05(08,3%)
Outros(M)	19(31,6%)	21(35,0%)
Outros(H)	02(03,3%)	03(05,0%)
Localização		
MI	21(35%)	19(31,7%)
MS	21(35%)	22(36,6%)
CABEÇA	05(8,3%)	06(10,0%)
MISTO	09(15%)	06(10,0%)
TRONCO	04(6,7%)	07(11,7%)
Pardos	40(66,7%)	45(75,0%)
Branços	15(20,0%)	12(20,0%)
Negros	05(08,3%)	03(05,0%)
Idade - Média	41(68,3%)	33,7(56,1%)
Menor	18	18
Maior	88	84
Evolução (média em semanas)	4,9	4,6
Menor Tempo (em semanas)	1,0	2,0
Maior Tempo (em semanas)	12,0	12,0
Nº lesões (média)	1,4	1,7
Nº lesões (mínimo)	1,0	1,0
Nº lesões (máximo)	4,0	20,0
Bubão (presente)	33(55,0%)	34(56,7%)
Bubão (ausente)	27(45,0%)	26(43,3%)
Peso (< 50 Kg)	12(20,0%)	48(80,0%)
Peso (> 50 Kg)		55(91,7%)
Cura (primária)	40(66,7%)	59(98,3%)
Cura (secundária)	20(33,7%)	01(01,7%)
T. Lesão (média)	25,2±18,2	27, 8±30,0

Fonte: dados da pesquisa.

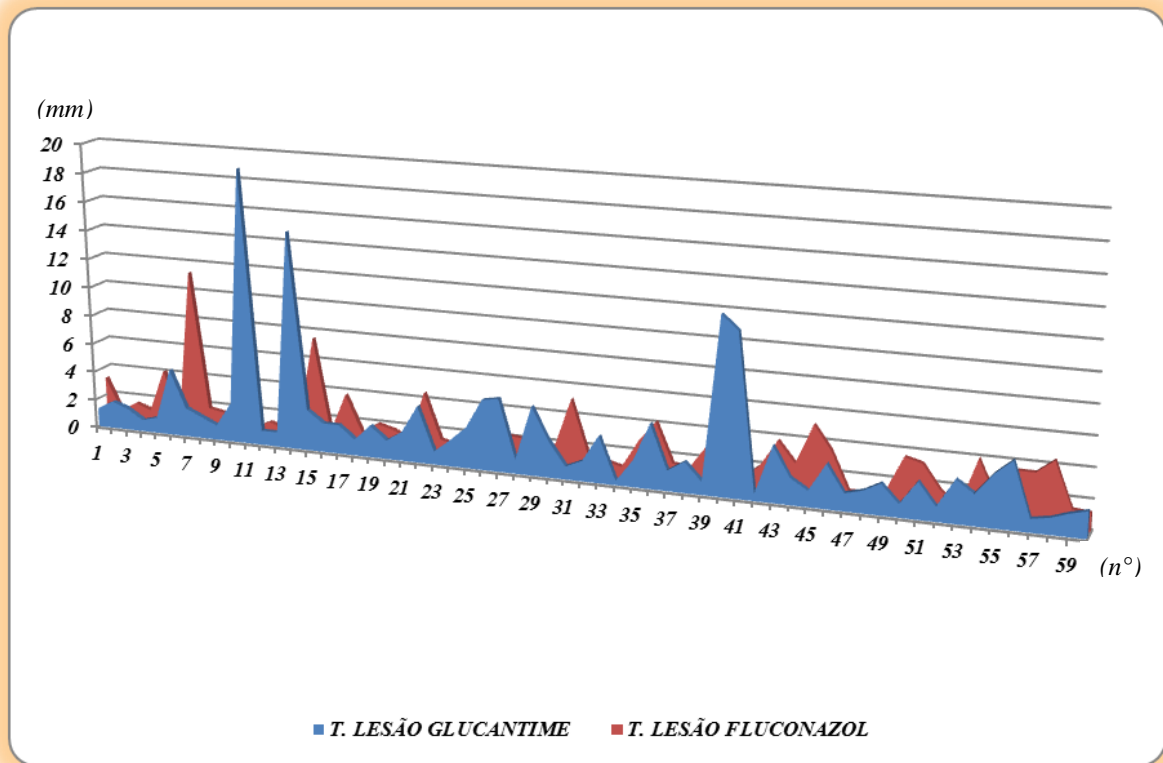


Figura 13 - Tamanho das lesões em pacientes portadores de LT tratados com Fluconazol® e Glucantime®.
Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 3 - Dados clínicos dos pacientes portadores de LTA, tratados com Fluconazol® e Glucantime®.

ASPECTOS CLÍNICOS	PACIENTES EM USO DE FLUCONAZOL®	PACIENTES EM USO DE GLUCANTIME®	TOTAL
HIPERTENSÃO	07	05	12
DIABETES MELITUS	01	00	01
OLIGOFRENIA	01	00	01
INSUF. AÓRTICA	01	00	01
DEFIC. AUDITIVA	00	01	01
SEM ALTERAÇÕES CLÍNICAS	50	54	104
TOTAL	60	60	120

Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 4 - Apresentação dos dados laboratoriais dos pacientes portadores de LTA, tratados com Fluconazol® e Glucantime®.

DADOS LABORATORIAIS	FLUCONAZOL®	GLUCANTIME®
GLICOSE (mg/dl)		
Média	079,30	076,20
Mínimo	066,00	65,40
Máximo	104,00	98,60
URÉIA (mg/dl)		
Média	23,3	23,6
Mínimo	13,5	14,0
Máximo	49,0	71,5
CREATININA (mg/dl)		
Média	0,6	0,6
Mínimo	0,1	0,1
Máximo	1,7	1,9
AST (U/L)		
Média	24,6	26,5
Mínimo	11,0	11,0
Máximo	49,0	85,7
ALT (U/L)		
Média	21,8	22,6
Mínimo	11,0	11,0
Máximo	49,1	79,2
HEMOGRAMA		
Hematócrito (\bar{x} - %)	39,3	39,6
Hemoglobina (\bar{x} - g/100 ml)	12,6	12,8
Eritrócitos (\bar{x} - $10^6/\text{mm}^3$)	4.216.667	4.250.667
Leucócitos (\bar{x} - $10^3/\text{mm}^3$)	6.137	6.571
SUMÁRIO DE URINA		
Normais (n,%)	57(95%)	55(91,6%)
Alterados (n,%)	03(05%)	050(8,4%)
ELETROCARDIOGRAMA		
Normais (n,%)	56(93,3%)	56(93,3%)
Alterados (n,%)	04(06,7%)	04(06,7%)

Fonte: dados da pesquisa.

Na Tabela 5, observam-se os efeitos terapêuticos das drogas utilizadas no estudo, permitindo-se medir o efeito destas intragrupo e intergrupo. A medida de efeito intergrupo refere-se à redução do risco relativo, também conhecida como EFICÁCIA TERAPÊUTICA (ET). Esta medida é calculada considerando-se o risco de cada droga isoladamente, posteriormente aplicando-se a fórmula da Figura 14.

Tabela 5 – Sucesso da terapia intragrupo de pacientes portadores de LTA tratados com Fluconazol® e Glucantime®.

TRATAMENTO	EFEITO TERAPÊUTICO		TOTAL
	SUCESSO	INSUCESSO	
	n-(%)	n-(%)	
FLUCONAZOL	40 (66,6%)	20	60
GLUCANTIME	59(98,3%)	01	60
TOTAL	99	21	120

Fonte: dados da pesquisa.

$$ETF = (1 - (S.T.F./S.T.G.)) \times 100$$

ETF= Eficácia Terapêutica do Fluconazol.

S.T.F.= Sucesso terapêutico do Fluconazol®, (Eficácia intragrupo).

S.T.G.= Sucesso terapêutico do Glucantime®, (Eficácia intragrupo).

Figura 14 - Expressão matemática do cálculo da eficácia terapêutica.

Fonte: COUTINHO; CUNHA, 2005.

Tem-se, portanto, o seguinte resultado: S.T.F.= 40/60= 0,6; S.T.G.= 59/60= 0,98. A chance de cicatrização da lesão intragrupo, utilizando o Fluconazol®, é de 60%. A do Glucantime® é de 98%; no entanto a **eficácia terapêutica** do Fluconazol® quando comparado com o Glucantime®, seria de **38,7%**. Não obstante a baixa eficácia terapêutica, não se observou nenhum efeito colateral no curso do tratamento com o Fluconazol®.

Os dados obtidos mostram que todos os resultados bem-sucedidos, observados com o Grupo I (tratados com Fluconazol®), foram evidenciados em lesões de menos de 30 mm, como se observa na Tabela 05. A relação entre tamanho da lesão e a chance de cura pelo Fluconazol® existe e tem correlação inversamente proporcional, como mostra o Coeficiente de Correlação de Pearson, igual a -0,7842 (correlação negativa e moderada). Esta correlação é estatisticamente significativa para um $p < 0,05$, ($p < 0,0001$).

Tabela 6 - Relação do tamanho da lesão e o efeito do tratamento com Fluconazol® em pacientes portadores de

TAMANHO DA LESÃO	EFEITO DO FLUCONAZOL		TOTAL
	SUCESSO	INSUCESSO	
> 30 mm	00	20	20
< 30 mm	40	00	40
TOTAL	40	20	60

Fonte: dados da pesquisa.

A cicatrização das lesões ocorreu em todos os casos e em ambos os grupos. O critério de cura utilizado foi, essencialmente, clínico, definido pela reepitelização das lesões ulceradas, regressão total da infiltração e eritema, até três meses após a conclusão do esquema terapêutico (Figura 15); critério avaliado pelo pesquisador e, independentemente, por um observador cego, como descrito na metodologia. O tempo médio de cicatrização do Grupo I (Fluconazol®) foi de 45,7 dias, com tempo mínimo de 32 dias, ocorrência em dois casos de mulheres jovens, com lesão de 09 mm cada; tempo máximo de 62 dias, observado em 20 lesões com tamanho superiores a 30 mm, resistentes ao Fluconazol® e responsivas ao tratamento de 20 dias com Glucantime®. A cicatrização das lesões no Grupo II (Glucantime®) se deu nos primeiros 20 dias de acompanhamento clínico em 59 pacientes, responsivos ao Glucantime®. Um só caso de leishmaniose tegumentar em homem jovem com 20 lesões não respondeu ao tratamento convencional, respondendo prontamente à anfotericina B em 20 dias, com cura final após 40 dias de acompanhamento clínico e sem recidiva.



Figura 15 - Lesão leishmaniótica ativa (A) e cicatrizada (B)
 Fonte: Brasil, 2007

Aplicando-se o método do Produto Limite (Tábua de Vida de Kaplan-Meir) em ambos os grupos, adaptado para desfecho **cura**, observa-se que a chance de cura pelo Fluconazol®, Grupo I, ocorre entre 30 e 40 dias, com chances cada vez mais reduzidas na linha do tempo (Figura 16). Por outro lado, as evidências no Grupo II, tratados com o Glucantime®, mostram que a cura se dá completamente ao final do tratamento de 20 dias (Figura 17), exceto em um caso que foi tratado por anfotericina B. Os dados são significantes estatisticamente (Logrank com $p < 0,0001$). As medianas de cura em cada grupo ficaram perto de 40 dias para o Fluconazol® e de 20 dias para o Glucantime®. A curva e o teste mostram que há cura, porém em tempos distintos, com o Glucantime mais cedo e com o Fluconazol um pouco mais tardio (Figura 18).

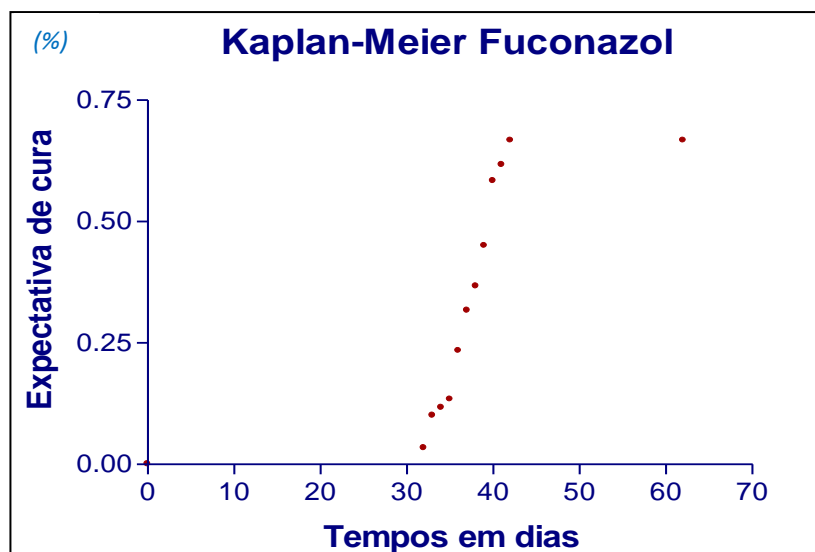


Figura 16 - Plotagem do Produto Limite de pacientes com LT tratados com Fluconazol®.

Fonte: dados da pesquisa fornecidos pelo SPSS.

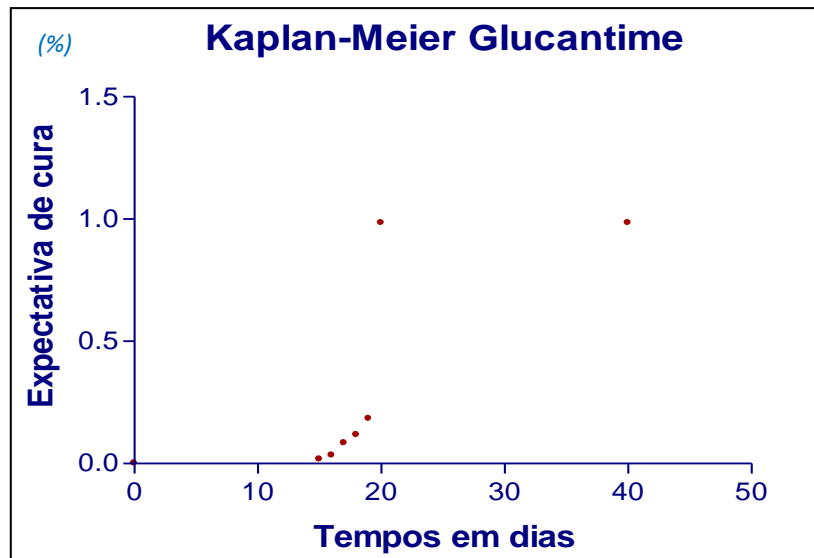


Figura 17 - Plotagem do Produto Limite de pacientes com LT tratados com Glucantime®.
Fonte: dados da pesquisa fornecidos pelo SPSS.

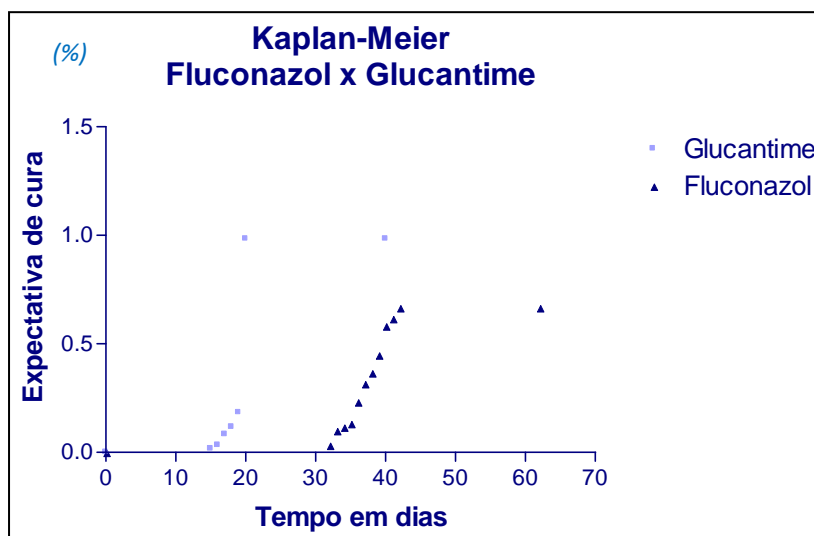


Figura 18 – Plotagem do Produto Limite de pacientes portadores de LT tratados com Glucantime® e Fluconazol®.
Fonte: dados da pesquisa fornecidos pelo SPSS.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Este estudo, randomizado, realizado em uma população de 120 pacientes, visando a avaliar a eficácia terapêutica do Fluconazol® em altas doses no tratamento da leishmaniose Tegumentar, justificou-se e se justifica em função dos riscos relacionados ao uso dos fármacos de primeira linha, em geral, em pacientes idosos, principalmente em cardiopatas, hepatopatas e nefropatas, ao uso injetável exclusivo destes, às complicações no local da aplicação, dentre outros desconfortos e contraindicações. Segue a linha de vários estudos realizados em áreas endêmicas, inclusive a região de Baturité, visando a encontrar uma droga alternativa ao tratamento da leishmaniose tegumentar por *Leishmania (V.) braziliensis* (LAFFITTE; GENTONB; PANIZZON, 2005; ALRAJHI *et al.*, 2002.) A população objeto deste estudo esteve representada por pacientes, em geral da zona rural, residentes no Município de Barbalha, aleatoriamente distribuídos em dois grupos - o Grupo I, com 60 pacientes em uso de Fluconazol® (Laboratório PRATI-DONNADUZZI, caixas com 100 cápsulas gelatinosas duras), 300 ou 450mg/dia. 300mg tendo sido administrados aos pacientes com peso menor ou igual a 50 kg, e 450mg para os pacientes com peso superior a 50 kg. Um Grupo II representado por pacientes em uso de Glucantime® na dose de 20mg/kg/dia, tratados por 20 dias consecutivos por via intravenosa, durante 30 minutos de aplicação.

Os indivíduos do estudo estiveram representados, em sua maioria, por pessoas rurícolas do Município de Barbalha, residentes fixos não flutuantes, local do estudo, residentes na encosta da chapada do Araripe, zona de floresta ao Sul do Estado do Ceará. Este fato mostra que a leishmaniose tegumentar, em Barbalha, é ainda zoonose, como descrito na literatura (BRASIL, 2007; GONTIJO; CARVALHO, 2003). Os sujeitos, em sua maioria, são mestiços (cor parda da pele parda), discreta prevalência no sexo feminino no grupo do Fluconazol® 34F(56,6%), 26H(43,7%). A população do GRUPO II apresentou equivalência em gênero, 50% de homens e 50% de mulheres. Ao que parece, em Barbalha, as mulheres, como os homens, frequentam a mata. A literatura mostra que a leishmaniose é predominante no sexo masculino, pelo menos experimentalmente (TRAVI *et al.*, 2002). A população estudada é de adultos jovens, com idade média de 41 anos (68,3%) no Grupo I e de 33,7 anos (56,1%) no Grupo II. A literatura nacional afirma que a LT ocorre em ambos os sexos e em todas as faixas etárias, entretanto, na média do País, predominam os maiores de dez anos, em 90% dos casos, no sexo masculino com 74% da casuística (BRASIL, 2007). O tempo de evolução média no Grupo I foi de 4,9 semanas ($\pm 2,2$ de desvio-padrão), um pouco mais de um mês; no Grupo II foi de 4,6 semanas ($\pm 2,2$ de desvio-padrão), muito próxima do Grupo I. Os

trabalhos mostram que para a forma LCM determinada pela *L. (V.) panamensis*, na Colômbia, o período de evolução situa-se em torno de dois a três meses (OSORIO; CASTILLO; OCHOA, 1998). Este fato parece demonstrar que habitantes da área de Barbalha se preocupam com a saúde ou a imunobiologia da leishmaniose local deve ter outro perfil. Dado de interesse foi o achado de que um pouco mais de 50% dos casos de LT estudados se apresentaram com a forma bubônica (Grupo I: 33(55,0%); Grupo II 34(56,7%)). Esta forma de leishmaniose, determinada pela *L. (V.) braziliensis*, é descrita na literatura (SOUSA *et al.*, 1995). Manifesta-se com linfadenopatia satélite, às vezes importante, acompanhada ou não de febre com calafrio. O quadro antecede de dias a semanas o aparecimento da ulceração e a punção do linfonodo mostra riqueza de formas amastigotas (BOMFIM, *et al.*, 2007, SOUSA *et al.*, 1995).

No tocante a comorbidades, encontrou-se uma baixa associação da LTA, no presente estudo, com outras doenças sincrônicas. 12 pacientes apresentaram hipertensão arterial, controlada, em tratamento, um diabético, um oligofrênico acompanhado pelo CAPS local, um paciente com deficiência auditiva e um com insuficiência aórtica. As comorbidades não influenciaram o curso da doença, tampouco interferiram no tratamento sugerido. Há descrições, cada vez mais crescente de associação da LTA com pacientes soropositivos, não evidenciados neste estudo (RABELLO; ORSINI; DISCH; 2003).

Os dados laboratoriais não apresentaram alterações de interesse, a ponto de interferir no curso da doença e em seu tratamento.

Em relação ao diagnóstico de LT dos indivíduos do estudo, as metodologias mostraram sensibilidade variável. O Imprint como exame parasitológico evidenciou importante sensibilidade nos dois grupos estudados (Grupo I: 58(96,7%); 59(98,3%)). Estudos demonstram a sensibilidade do método, fácil, de baixo custo e alta sensibilidade quando realizado com técnica e por *expertise* (LUZ *et al.*, 2009; BAHAMDAN, 1996). Os achados corroboram os dados da literatura (GONTIJO; CARVALHO, 2003). O Montenegro, à semelhança do Imprint, mostrou alta sensibilidade nos dois Grupos (Grupo I: 56(93,3%); Grupo II: 55(91,6%)). O Montenegro não deve ser usado de forma isolada quando da investigação de pacientes em área endêmica, considerando o alto nível de sensibilização dos indivíduos nestas regiões (PESSOA; LOPES, 1963; MARZOCHI, 1992). A biopsia com histopatológico não é método sensível para diagnóstico de LT, especialmente na forma mucocutânea (RIDLEY; MAGALHÃES; MARSDEN, 1989), devendo ser utilizada quando no diagnóstico diferencial com micoses profundas da pele (cromomicose, blastomicose) e carcinoma de pele, basocelular ulcerado e o epidermoide (MAGALHÃES; CHIARINI;

RAICK, 1982). Os achados deste estudo confirmam os dados da literatura (Grupo I: 38(63,7%); Grupo II: 31(51,6%)). A cultura de leishmania a partir de *punch* de pele é método parasitológico importante, com alta sensibilidade, porém neste estudo mostrou equivalência com o histopatológico, em função das várias contaminações durante o procedimento (Grupo I: 38(63,7%); Grupo II: 41(68,3%)). Trata-se de método eficaz, porém com longa duração e necessidade de requinte durante a coleta, bem como no decurso do tempo de incubação e monitoramento de crescimento dos parasitos (RODRIGUES, 2000).

Talvez um dos grandes problemas, no contexto médico, da leishmaniose tegumentar, esteja no tratamento (REITHINGE *et al.*, 2007). Trata-se de penúria ao enfermo com a(s) chaga(s) aberta(s), muitas vezes deformante(s) por deixar cicatriz(es). Mesmo transcorridas várias décadas de seu advento por Gaspar de Oliveira Viana, os antimoniais pentavalentes, originalmente o trivalente conhecido como tártaro emético, não encontraram substitutos à altura (COSTA, 1992; MITROPOULOS; KONIDAS, DURKIN-KONIDAS, 2010). A leishmaniose tegumentar é tão antiga quanto a história da humanidade, como civilização (PISCOPO; MALLIA, 2006.). Desde a Antiguidade, há relatos da LT, existindo descrições de suas manifestações clínicas na biblioteca do Rei Assurbanipal no século 7º a.C., (MANSON-BAHR, 1996). De início, os pacientes com LT eram tratados com unguentos locais e extratos de plantas. Somente no século XIX, em Tashkent, capital do Uzbequistão, principal cidade da Ásia Central, nos sopés das montanhas Golestan com rica fauna flebotômica, passou-se a usar o ácido láctico puro como abrasivo das lesões. Diversos outros abrasivos foram utilizados durante este período com sucesso relativo ou duvidoso (BERMAN, 1988).

Coube a Gaspar de Oliveira Viana utilizar, pela primeira vez, o antimomial trivalente, conhecido na época como tártaro emético (DEMICHELI; FRÉZARD, 2005). O antimomial trivalente já era utilizado como emético, no tratamento da sífilis e até da gota (WELDON *et al.*, 1983). Efeitos colaterais, como depressão, tosse e dores precordiais, foram apontados como pontos negativos, investindo-se na procura de tratamento alternativo (BERMAN, 1988). Esses efeitos indesejáveis do TE, instigaram a pesquisa, culminando com o desenvolvimento dos antimoniais pentavalentes (SbV), como a ureia estibamina, o estibosan e o neoestibosan em 1920 (ALMEIDA; SANTOS *et al.* 2008).

O tratamento da leishmaniose tegumentar, na forma ulcerada simples, é recomendado para acelerar o processo de cura e evitar a persistência ou disseminação do parasito, além de minimizar as deformações cicatriciais (BLUM *et al.*, 2004, WEINA *et al.*,

2004). Diferentemente na LCM e no calazar, o tratamento deve ser sempre realizado, porquanto estas formas de leishmaniose podem complicar e culminar com o óbito (BRASIL, 2006; DAVIDSON, 1998). Nas regiões onde a leishmaniose é endêmica, há o provimento, por parte dos órgãos oficiais de saúde, para o tratamento gratuito de todos os pacientes, embora existam falhas, por vezes importantes, na consecução desta demanda, em virtude da limitação do quantitativo do arsenal terapêutico e da carência de profissionais qualificados para o diagnóstico e o acompanhamento do tratamento (REITHINGER *et al.*, 2007).

O controle da leishmaniose tegumentar nos dias de hoje é baseado somente no tratamento farmacoterápico, visto que as vacinas não mostraram o efeito desejado, porém há vários ensaios em curso no sentido de desenvolver uma vacina com elevada eficácia profilática (PALATNIK-DE-SOUSA, 2008). O tratamento primário continua sendo o antimonial pentavalente, na fórmula do estibogluconato de sódio (Pentostan®, Glaxo Wellcome, Londres, Reino Unido), amiúde utilizado nos países de língua inglesa, ou como antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®, Rhone-Poulenc-Roher, Paris, França), utilizado principalmente em países da América Latina e nações de língua francesa ou espanhola (BERMAN, 1988; RATH *et al.*, 2003). Estudo comparativo entre as duas formulações foi realizado no Quênia, revelando melhor viabilização econômica do Glucantime® (MOORE *et al.*, 2001). Não obstante, a Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que a eficácia terapêutica do Glucantime® depende de vários fatores, como a situação geográfica e os tipos de protocolos de tratamentos utilizados (GONTIJO; CARVALHO, 2003). A maioria das regiões endêmicas, com exceção da Venezuela, da Guiana Francesa e do Suriname, que possuem políticas próprias de saúde, as demais seguem as orientações da OMS no tratamento da leishmaniose tegumentar, do uso de 20mg/kg de Glucantime®, por dia, durante 20 dias consecutivos (REITHINGER *et al.*, 2007). A orientação original era de 10mgSbV/kg (Glucantime®), contudo, com o aparecimento de casos não responsivos ao tratamento, particularmente em território indiano, nos anos 1970, foi indicada esta nova posologia (THAKUR *et al.*, 1999) Evidências são descritas de que a resposta ao tratamento da LT depende da espécie e cepa de *Leishmania sp.* (ALMEIDA; SANTOS *et al.*, 2008; AREVALO *et al.*, 2007; YARDLEY *et al.*, 2006). Ademais, a utilização dos antimoniais pentavalentes é ameaçada pelo desenvolvimento natural de resistência dos parasitos à droga (CROFT; SUNDAR; FAIRLAMB, 2006). Estes eventos desencadearam, nos últimos anos, a busca de opções para a quimioterapia da leishmaniose, baseando-se em drogas utilizadas em doenças similares, substâncias de potencial biotecnológico isoladas de vegetais e micro-organismo, além de substâncias utilizadas na medicina popular (LIMA *et al.*, 2007).

A literatura descreve aproximadamente 25 compostos com propriedades leishmanicidas, embora uns poucos apenas sejam utilizados no tratamento das leishmanioses. De um modo geral, apresentam uma ou mais desvantagens, como custo elevado de produção, dificuldade de administração, toxicidade, ou determinam o desenvolvimento de resistência (MISHRA; SAXENA; SINGH, 2007).

Na atualidade, para os casos não responsivos aos pentavalentes, utiliza-se a anfotericina B, inclusive sua formulação lipossomal, as pentamidinas e a paromomicina (BRASIL 2007). Por outro lado, importantes efeitos colaterais e o alto custo de produção limitam seu uso (MISHRA; SAXENA; SINGH, 2007). Ademais, já foram descritos casos resistentes ao tratamento com pentamidina (BASSELIN *et al.*, 2002). Os estudos demonstram quatro novas drogas, em potencial, no tratamento da LV, incluindo a anfotericina B lipossomal (BERMAN, 1998), miltefosine oral e a sitamaquina (SUNDAR; RAI, 2002; MOORE; LOCKWOOD, 2010), estas duas em teste na Índia; e uma formulação parenteral de Aminosidina, a Paromomicina (THAKUR *et al.*, 2000). Em relação à leishmaniose tegumentar, foram introduzidas formulações tópicas de paromomicina (SOTO *et al.* 2001; SANTOS *et al.*, 2008), o imunomodulador *imiquimod* (GARNIER; CROFT, 2002) e muito promissor o uso do Fluconazol®, via oral (GONZALEZ, 2002).

Vários trabalhos revelam a possível eficácia terapêutica do Fluconazol®, por via oral, durante, em média, seis semanas, contra várias espécies distintas de leishmanias (ALRHAJI *et al* 2002; SOUSA *et al.*, 2011; LAFFITTE; GENTONB; PANIZZON, 2005; MINODIER *et al.*, 2005). O presente estudo teve como objetivo principal avaliar a eficácia terapêutica do Fluconazol®, em altas doses, por via oral, em relação ao tratamento-padrão preconizado pelo Ministério da Saúde. Sessenta pacientes com idade mínima de 18 anos submeteram-se ao tratamento durante seis semanas. Ao cabo do estudo, 40 obtiveram sucesso no tratamento, equivalente a 66,6% (eficácia intragrupo) da população estudada, enquanto os indivíduos com o tratamento-padrão, tradicional, 59 obtiveram resultados satisfatórios (98,3%). O cálculo da ET final foi de 38,7%. Nenhum paciente do grupo do Fluconazol® apresentou reações adversas, alterações significativas da função hepática, renal ou cardíaca. Avaliando os casos tratados com Fluconazol®, todos os insucessos ocorreram em pacientes com lesões superiores a 30 mm (Figura 19). Retirando-se os pacientes, do Grupo I, com lesões superiores a 30 mm (Figura 20), teríamos uma eficácia terapêutica superior ao tratamento realizado com Glucantime, marginando o 100%. Revendo a literatura, um só trabalho considera o tamanho das lesões (ALRHAJI *et al.*, 2002). Neste estudo com 80 pacientes em uso de Fluconazol®, as lesões tinham tamanho médio de 17±11 mm. No

presente estudo, o tamanho médio das lesões no grupo do Fluconazol® estava em torno de 25,2 mm, com desvio padrão de $\pm 28,2$; no grupo do Glucantime com 27,8 mm e desvio padrão de ± 30 . Este fato modifica o olhar no tocante ao tratamento da leishmaniose tegumentar com Fluconazol® em lesões com tamanhos superiores a 30 mm. Os dados obtidos no estudo não se devem ao acaso. A relação entre tamanho da lesão e a chance de cura pelo Fluconazol® existe e tem correlação inversamente proporcional, como mostra o coeficiente de correlação de Pearson, igual a $-0,7842$ (correlação negativa e moderada). Esta correlação é estatisticamente significativa para um $p < 0,05$, (0,0001). A causa desta relação não está transparente no estudo, tampouco foi objeto deste trabalho.



Figura 19 – Lesões ulceradas e cicatrizadas de LTA com diâmetro menor que 30 mm.
Fonte: dados da pesquisa.



Figura 20 – Lesões ulceradas de LTA com diâmetro maior que 30 mm.
Fonte: dados da pesquisa.

A curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e o teste de Logrank mostram que há cura, porém em tempos distintos apresentando significância estatística com o Glucantime® mais cedo e com o Fluconazol® um pouco mais tardio. Esta diferença perde o significado, considerando-se que: a diferença de tempo médio é de 20 dias; os benefícios advindos do tratamento oral se sobrepõem à diferença temporal; os riscos de complicações diminuem sobremaneira. No presente estudo não foi observado efeito colateral com o Fluconazol®. Há, porém, um inconveniente - o custo do tratamento. Um tratamento de leishmaniose tegumentar com Glucantime®, considerando um adulto jovem, utilizando uma dose média (duas ampolas

ao dia, durante 20 dias), sairia por R\$ 296,00 (duzentos e noventa e seis reais); um tratamento de leishmaniose tegumentar com Fluconazol®, considerando um adulto jovem, utilizando uma dose média de três comprimidos de 150 mg ao dia durante 42 dias (seis semanas), sairia por R\$ 1.127,30 (mil cento e vinte sete reais e trinta centavos).

Em conclusão, pode-se afirmar que, pelo menos, nos pacientes portadores de LT oriundos de Barbalha, lesões com tamanho superior a 30 mm, adultos jovens, sem comorbidades, não grávidas e sem estado de amamentação, o tratamento convencional com Glucantime deve ser o preferencial. Nos demais casos, avaliadas as condições do paciente, o Fluconazol seria a droga de escolha. Evitaria o deslocamento diário do paciente, residente em sítio, rurícola do sopé da chapada do Araripe, para o Centro de Saúde, visando a tomar a formulação injetável do Glucantime. Pouparia o paciente dos desconfortos da aplicação injetável e suas complicações, além de efeitos adversos na função hepática, renal e cardíaca. Não haveria, em princípio, a necessidade de exames de controle durante o tratamento, somente a rotina inicial para avaliar a real situação do paciente. Ademais, um Imprint, associado ao Montenegro, seria o método preferencial para se formular o diagnóstico.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Trata-se de um estudo de eficácia terapêutica, comparativo, porém com efeitos importantes, concluindo-se que.

1 o Fluconazol®, por via oral, em doses de 300 e 450 mg ao dia, durante seis semanas, em pacientes residentes fixos do Município de Barbalha, adultos jovens, sem comorbidades, não grávidas e sem estado de amamentação, estaria indicado para o tratamento da leishmaniose tegumentar com lesões menores de 30 mm (isolada ou a soma do tamanho das lesões), como droga de primeira escolha, em dose única, de dois comprimidos de 150 mg, pela manhã em pacientes com menos de 50 kg e em dose única, de três comprimidos de 150 mg, pela manhã em paciente com mais de 50 kg, durante seis semanas, e que não tenham reação alérgica conhecida ao derivado imidazólico; e

2 o Imprint associado à intradermoreação de Montenegro deve ser utilizado como método, primeiro, de diagnóstico, para efeito de tratamento, nos pacientes portadores de lesões suspeitas de LT.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ADLER-MOORE, J.; PROFFITT, R. T. Ambisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. **J. Antimicrob. Chemother.** v. 49, n. 1, p. 21-30, 2002.
- ALMEIDA, J. F. **A bíblia sagrada**. Brasília: Sociedade Bíblica do Brasil, 1969.
- ALMEIDA, O. L. S.; SANTOS, J. B. Avanços no tratamento da Leishmaniose Tegumentar do novo mundo nos últimos dez anos: uma revisão sistemática da literatura. **An. Bras. Dermatol.**, v. 86, n. 3, p. 497-506, 2011.
- ALRAJHI, A. A. Cutaneous leishmaniasis of the old world. **Skin Therapy Lett.**, v. 3, n. 2, p. 1-4, 2003.
- ALRAJHI, A. A.; IBRAHIM, E. A.; DE VOL, E.; KHAIRAT, M.; FARIS, R. M.; MAGUIRE, J. H. Fluconazole for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. **N. Engl. J. Med.**, v. 346, n. 12, p. 891-895, 2002.
- ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M. C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O.; MARZOCHI, K. B. F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **Hist. Ciênc. Saúde-Manguinhos**, v. 10, n. 3, p. 853-882, 2003.
- AREVALO, J.; RAMIREZ, L.; ADAUI, V.; ZIMIC, M.; TULLIANO, G.; MIRANDA-VERÁSTEGUI, C.; LAZO, M.; LOAYZA-MURO, R.; DE DONCKER, S.; MAURER, A.; CHAPPUIS, F.; DUJARDIN, J. C.; LLANOS-CUENTAS, A. The influence of *Leishmania (Viannia)* species on the response to antimonial treatment of patients with American Cutaneous Leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 195, n. 12, p. 1846-1851, 2007.
- ASTE, M.; PAU, M.; FERRELI, C.; BIGGIO, P. Intralesional treatment of cutaneous leishmaniasis with meglumina antimonite. **Br. J. Dermatol.**, v. 138, n. 2, p. 370-371, 1998.
- BAHAMDAN, K.A.; KHAN, A. R.; TALLAB, T. M.; MOURAD, M. M. Value of touch preparations (imprints) for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Int. J. Dermatol.**, v. 35, n.8, p.558-560, 1996.
- BARRAL, A.; GUERREIRO, J.; BOMFIM, G. ; CORREIA, D. ; BARRAL-NETTO, M.; CARVALHO, E. M. Lymphadenopathy As The First Sign Of Human Cutaneous Infection By *Leishmania Braziliensis*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, n. 3, p. 256-259, 1995.
- BASSELIN, M.; DENISE, H.; COOMBS, G. H.; BARRETT, M. P. Resistance to Pentamidine in *leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondrion. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 46, n. 12, p. 3731-3738, 2002.
- BASSIOUNY, A.; EL MESHAD, M.; TALAAT, M.; KUTTY, K.; METAWAA, B. Cryosurgery in cutaneous leishmaniasis. **Br. J. Dermatol.**, v. 107, n. 4, p. 467-474, 1982.
- _____, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da**

leishmaniose tegumentar americana, 2. ed. rev. ampl. Brasília, 2007. v. 2.

_____, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose visceral grave – normas e condutas**. Brasília, 2006. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BEACH, D. H.; GOAD, L. J.; HOLZ, G. G. J. R. Effects of antimycotic azoles on growth and sterol biosynthesis of *Leishmania* promastigotes. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 31, n. 2, p. 149-162, 1988.

BECK, S. Spanish colonies and the West Indies 1580-1744. **BECK index**. Disponível em: <<http://san.beck.org/11-4-LatinAmerica1580-1744.html>>. Acesso em: 2 jan. 2012.

BELKAID, Y.; KAMHAWI, S.; MODI, G.; VALENZUELA J.; NOBEN-TRAUTH, N.; ROWTON, E.; RIBEIRO, J.; SACKS, DL. Development of a Natural Model of Cutaneous Leishmaniasis: Powerful Effects of Vector Saliva Preexposure on the Long-term Outcome of *Leishmania major* Infection in the Mouse Ear Dermis. **J. Exp. Med.**, v. 188, n. 10, p. 1941-1943, 1998.

BERMAN, J. Clinical status of agents being developed for leishmaniasis. **Expert Opin. Investig. Drug**, v. 14, n. 11, p. 1337-1346, 2005.

BERMAN, J. Current treatment approaches to leishmaniasis. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 16, n. 5, p. 397-401, 2003.

BERMAN, J. D. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clin. Infect. Dis.**, v. 24, p. 684-703, 1997.

BERMAN, J. D. Treatment of new world cutaneous and mucosal leishmaniasis. **Clin. Dermatol.**, v. 14, p. 519-522, 1996.

BERMAN, J. D. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. **Clin. Infect. Dis.**, v. 10, n. 3, p. 560-586, 1988.

BITTENCOURT, A. L.; BARRAL, A. Evaluation of the Histopathological Classifications of American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 86, n. 1, p. 51-56, 1991.

BLUM, J.; DESJEUX, P.; SCHWARTZ, E.; BECK, B.; HATZ, C. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travelers. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 53, n. 2, p. 158-166, 2004.

BOGDAN, C.; ROLLINGHOFF, M. The Immune Response to *Leishmania*: Mechanisms of Parasite Control and Evasion. **Int. J. Parasitol.**, v. 28, p. 121-134, 1998.

BOMFIM, G.; ANDRADE, B. B.; SANTOS, S.; CLARÊNCIO, J.; BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. Cellular Analysis of Cutaneous Leishmaniasis Lymphadenopathy: Insights into the Early Phases of Human Disease. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 77, n. 5, p. 854-859, 2007.

BOMFIM, G.; NASCIMENTO, C.; COSTA, J. CARVALHO, E. M.; BARRAL-NETO, M.; BARRAL, A. Variation of Cytokine Patterns Related to Therapeutic Response in Diffuse

Cutaneous Leishmaniasis. **Exp. Parasitol.**, v. 84, n. 2, p. 188-194, 1996.

BOTELHO, A. C. C.; TAFURI, W. L.; GENARO, O.; MAYRINK, W. Histopathology of human American Cutaneous Leishmaniasis before and after treatment. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31, n. 1, p. 11-18, 1998.

BRANDT, E.; WOERLY, G.; YOUNES, A. B.; LOISEAU, S.; CAPRON, M. IL-4 Production by Human Polymorphonuclear Neutrophils. **J. Leukoc. Biol.**, v. 68, n. 1, p. 125-130, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose tegumentar americana. Vigilância e monitoramento da leishmaniose tegumentar americana em Unidades Territoriais – Brasil, 1994 –2001. **Bol. Eletr. Epidemiol.**, ano 2, n. 5, 2002. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano02_n05_ve_lta_br.pdf>. Acesso em: 2 jan. 2012.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196/96. Decreto nº 93.933 de Janeiro de 1987. Estabelece critérios sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética**, v. 4, n. 2 supl., p. 15-25, 1996.

BRAY, R. S.; ALEXANDER, J. Leishmania and the macrophage. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. *Leishmania and the macrophage*. Orlando, Florida: Academic Press, 1987. v. 1, cap. 4, p. 211-233.

BRODSKYN, C.; BEVERLY, S. M.; TITUS, R. G. Virulent or Avirulent (dhfr-ts) *Leishmania major* elicit predominantly a type-1 cytokine by human cells in vitro. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 119, p. 299-304, 2000.

BRUJIN, M. H. L.; BARKER, D. C. Diagnosis of new world leishmaniasis: specific detection of species of the *L. braziliensis* complex by amplification of kinetoplast DNA. **Acta Trop.**, v. 52, p. 45-58, 1992.

CARVALHO, E. M.; CORREIA-FILHO, D.; BACELLAR, O.; LESSA, H.; ROCHA, H. A Characterization of the immune response in subjects with self-healing cutaneous leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, p. 273-277, 1995.

CARVALHO, S. H. **Avaliação da toxicidade da N-metilglucamina no tratamento da leishmaniose tegumentar americana em serviço público de referência de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Infectologia e Medicina tropical). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

CARVALHO, T.; DOLCI, J. E. L. Avaliação clínica da influência do uso de Glucantime em pacientes com Leishmaniose nasal. **Acta Orl.**, v. 24, n. 2, p. 77-82, 2006.

CASTÉS, M.; TAPIA, F. J. Immunopatología de la leishmaniasis tegumentaria americana. **Acta. Cient. Venezol.**, v. 49, p. 42-56, 1998.

CHIARI, A. C.; MAYRINK, W.; MAGALHÃES, P. A. Reação de imunofluorescência no controle do tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 15, p. 298-303, 1973.

- CONNOR, D. H.; CHANDLER, F. W.; SCHWARTZ, D. A.; MANZ, H. J.; LACK, E.E. **Pathology of infectious diseases**. Connecticut: Appleton & Lange, 1997. v. 2, p. 1191-1204.
- CONVIT, J.; VEGAS, F. K. Disseminated Cutaneous Leishmaniasis: Inoculation to Laboratory Animals, Electron Microscopy and Fluorescent Antibodies Studies. **Arch. Derm.** 91, p. 439-447, 1965.
- COOK, G. C. Leishmaniasis: some recent developments in chemotherapy. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 31, p. 327-330, 1993.
- COSTA, J. M. L. Tratamento da leishmaniose cutânea difusa (LCD) com a associação antimoniato-N-metilglucamina (Glucantime®) e Sulfato de Paramomicina (Gabbrox®). **An. Bras. Dermatol.**, v. 74, n. 1, p. 63-67, 1999.
- COSTA, J. M. L. O uso clínico das pentamidinas com especial referência nas leishmanioses. **Acta Amaz.**, v. 23, n. 2-3, p. 163-172, 1993.
- COSTA, J. M. L.. Leishmaniose tegumentar americana: origens e histórico no Brasil. **Acta Amaz.**, v. 22, n. 1, p. 71-77, 1992.
- COSTA, J. M. L.; MARSDEN, P. D.; LLANOS-CUENTAS, E. A.; NETTO, E. M.; CARVALHO, E. M.; BARRAL, A.; ROSA, A. C.; CUBA, C. C.; MAGALHÃES, A. V.; BARRETO, A. C. Disseminated cutaneous leishmaniasis in field clinic in Bahia, Brazil: a report of eight cases. **J. Trop. Med. Hyg.**, v. 89, n. 6, p. 319-323, 1986.
- COSTA, J. M. L.; VALE, K. C.; FRANCA, F.; SALDANHA, A. C.; DA SILVA, J. O.; LAGO, E. L.; MARSDEN, P. D.; MAGALHÃES, A. V.; SILVA, C. M.; SERRA, N. Spontaneous Healing of Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Cutaneous Lesions. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 23, n. 4, p. 205-208, 1990.
- COSTA FILHO, A. V.; LUCAS, I. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo entre Miltefosina oral e A antimoniato de N-metil Glucamina parenteral no tratamento da leishmaniose experimental causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, n. 4, p. 424-427, 2008.
- COUTINHO, S. G.; OLIVEIRA, M. P.; DA-CRUZ, A. M.; DE LUCA, P. M.; MENDONÇA, S. C. F.; BERTHO, A. L.; SOONG, L.; McMAHON-PRATT, D. T-Cell responsiveness of American cutaneous leishmaniasis patients to purified *Leishmania pifanoi* Amastigotes antigens and *Leishmania braziliensis* promastigotes antigens: immunologic patterns associated with cure. **Exp. Parasitol.**, v. 84, p. 144-155, 1996.
- COUTINHO, E. S. F.; CUNHA, G. M. Conceitos básicos de epidemiologia e estatística para a leitura de ensaios clínicos controlados. **Ver. Bras. Psiquiatr.** 2005; v. 27, n. 2, p.146-151. 2005.
- CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clin. Microbial. Rev.**, v. 19, n. 1, p. 111-126, 2006.
- DAVIDSON, R. N. Practical guide for treatment of leishmaniasis. **Drugs**, v. 56, p. 1009-1018, 1998.

DE OLIVEIRA, C. I.; NASCIMENTO, I. P.; ALDINA BARRAL, A.; SOTO, M.; BARRAL-NETTO, M. Challenges and perspectives in vaccination against leishmaniasis. **Parasitol. Int.**, v. 58, p. 319–324, 2009.

DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F. Novas embalagens para medicamentos à base de antimônio usados no tratamento da leishmaniose e esquistossomose. **Química Nova na Escola. Cadernos temáticos**, v. 6, p. 24-30, 2005.

DING, L.; LINSLEY, P. S.; HUANG, L. Y.; GERMAIN, R. N.; SHEVACH, E. M. IL-10 Inhibits Macrophage co-stimulatory Activity by Selectively Inhibiting the Up-regulation of B7 Expression. **J. Immunol.**, v. 151, n. 3, p. 1224-1234, 1993.

DOGAN, H.; HOT, I. A drug through the history of treatment: ‘emetic tartar’. **Acta - Congressus Historiae Pharmaciae 2001**. Disponível em: < http://www.cfs-clc.cz/Files/nastenka/page_3024/Version1/A%20drug%20through%20the%20history%20of%20treatment%20emetic%20tartar.pdf >. Acesso em: 3 jan. 2012.

DUARTE, M. L.; ROCHAEL, M. C. Perfil histopatológico e imuno-histoquímico da leishmaniose tegumentar americana com ênfase nos dendrócitos dérmicos FXIIIa+. **An. Bras. Dermatol.**, v. 81, n. 6, p. 541-546, 2006.

EL-ON, J. Current status and perspectives of the immunotherapy of leishmaniasis. **Isr. Med. Assoc. J.**, v. 11, n. 10, p. 623-628, 2009.

FARAH, F. S.; SAMRA, S. A.; NUWAYRI-SALTIT, N. The role of the macrophage in cutaneous leishmaniasis. **Immunology**, v. 29, n. 4, p.755-764, 1975.

FILIPPIN, F. B.; SOUZA, L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de Anfotericina B. **RBCF Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 42, n. 2, p. 167-194, 2006.

FREITAS, L. A. R.; SANTOS, W. L. C. Patologia das principais doenças tropicais no Brasil. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 1359 –1372.

FRÉZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBEIRO, R. R. Pentavalent antimonies: new perspectives for old drugs. **Molecules**, v. 14, p. 2317-2336, 2009.

FURTADO, T. Critérios para diagnóstico de LTA. **An. Bras. Dermatol.**, v. 65, p. 51-86, 1980.

FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar americana. In: MACHADO-PINTO, J. (Ed.). **Doenças infecciosas com manifestações dermatológicas**. Rio de Janeiro: Médica Científica, 1994. p. 319-328.

GARNIER, T.; CROFT, S. C. Topical treatment for cutaneous leishmaniasis. **Curr. Opin. Invest. Drugs**, v. 3, n. 4, p. 538-544, 2002.

GENARO, O. Leishmaniose tegumentar americana. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, 1997a. cap. 7, p. 41-63.

_____. Leishmaniose tegumentar do velho mundo. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, 1997b. cap. 8, p. 61-63.

GILLESPIE, R. D.; MBOW, M. L.; TITUS, R. G. The Immunomodulatory factors of blood feeding arthropod saliva. **Parasite Immunol.**, v. 22, n. 7, p. 319-331, 2000.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L R.. Leishmaniose tegumentar americana. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.

GONTIJO, B. A. **Reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana**. Tese (Doutorado em Parasitologia) Faculdade de Medicina- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

GONZALEZ, U. Fluconazole for cutaneous leishmaniasis: looking for a better treatment. **Arch. Dermatol.**, v.138, p. 1604–1606, 2002.

GRIMALDI Jr., G.; TESH, R. Leishmaniasis of the new world - current concepts and implications for future research. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 6, n. 3, p. 230-250, 1993.

GRIMALDI Jr., G.; TESH, R. B.; McMAHON-PRAT, D. A Review of the geographic distribution of leishmaniasis in the new world. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 41, n. 6, p. 687-725, 1989.

GUEDES, A. C. M.; DE CARVALHO, M. L. R.; MELO, M. N. Leishmaniose tegumentar americana: apresentação pouco comum. **An. Bras. Dermatol.**; v. 83, n. 5, p. 445-449, 2008.

HALDAR, A. K.; SEN, P.; ROY, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: current status and future directions. **Mol. Biol. Int.**, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3196053/pdf/MBI2011-571242.pdf>>. Acesso em: 3 jan. 2012.

HANDMAN, E. Leishmania vaccines: old and new. **Parasitol. Today**, v. 13, p. 236-237, 1997.

HANDMAN, E. Leishmaniasis: current status of vaccine development. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, n. 2, p. 229, 2001.

HART, D.T.; LAUWERS, W. J.; WILLEMSSENS, G.; VANDEN BOSSCHE, H.; OPPERDOES, F. R. Perturbation of sterol biosynthesis by itraconazol and ketoconazole in *Leishmania Mexicana Mexicana* infected macrophages. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 33, n. 2, p. 123-134, 1989.

HARTY, J. T.; TVINNEREIM, A. R.; WHITE, D. CD8+ T Cell Effector Mechanisms in Resistance to Infection. **Annu. Ver. Immunol.**, v.18, p. 275-308, 2000.

HEINZEL, F. P.; SADICK, M. D.; HOLADAY, B. J.; COFFMAN, R. L.; LOCKSLEY, R. M. Reciprocal expression of interferon-gamma or IL-4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis evidence for expansion of distinct helper t cell subsets. **J. Exp. Med.**, v.

169, p. 59-72, 1989.

HELLIER, I.; DEREURE, O.; TOURNILLAC, I.; PRATLONG, F.; GUILLOT, B.; JEAN-PIERRE DEDET, J. P.; GUILHOU, J. J. Treatment of old world cutaneous leishmaniasis by pentamidine isothionate - an open study of 11 patients. **Dermatology**, v. 200, n. 2, p. 120-123, 2000.

HORBER, F.F.; LERUT, J.P.; REICHEN, J.; ZIMMERMANN, A.; JAEGER, P.; MALINVERNI, R. Visceral leishmaniasis after orthotopic liver transplantation: impact of persistent splenomegaly. **Transpl. Int.**; v. 6, n. 1, p. 55-57, 1993.

HUEB, M. Anfotericina B lipossomal no tratamento das leishmanioses. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 41., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, SC, 2004. p. 350.

JEKEL, J. F.; KATZ, D. L.; ELMORE, J. G. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. 2. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2005.

JOSÉ, F. F.; SILVA, I. M.; ARAÚJO, M. I.; ALMEIDA, R. P.; BACELLAR, O.; CARVALHO, E. M.. Avaliação do poder sensibilizante da reação de Montenegro. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 6, p. 537-542, 2001.

JOSEPH, S. B.; MINER, K. T.; CROFT, M. Augmentation of Naïve, Th1 and Th2 Effector CD4 responses by IL-6, IL-1 and TNF α . **Eur. J. Immunol.**, v. 28, p. 277-289, 1998.

JÚNIOR, A. N. A.; SILVA, O.; MORAES, J. L. P.; NASCIMENTO, F. R. F.; PEREIRA, Y. N. O.; COSTA, J. M. L.; REBÊLO, J. M. M. Foco emergente de leishmaniose tegumentar (LT) no entorno do parque nacional dos lençóis maranhenses, Nordeste, Brasil. **Gaz. méd. Bahia.**, v.79, supl.3, p.103-109, 2009.

KANE, M. M.; MORSE, D. M. The role of IL-10 in promoting disease progression in leishmaniasis. **J. Immunol.**, v. 166, n. 2, p. 1141-1147, 2000.

KAR, K. Serodiagnosis of the leishmaniasis. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 21, p. 123-152, 1995.

KAWA, H.; SABROZA, P. C. Espacialização da leishmaniose tegumentar na cidade do Rio de Janeiro. **Cad. Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 853-865, 2002.

KEDZIERSKI, L.; MONTGOMERY, J.; BULLEN, D.; CURTIS, J.; GARDINER, E.; JIMENEZ-RUIZ, A.; HANDMAN, E. A Leucine-Rich Repeat Motif of *Leishmania* Parasite Surface Antigen 2 Binds to Macrophages through the Complement Receptor 3. **J Immunol.** v. 172. p. 4902-4906, 2004.

KEMP, M.; HEY, A. S.; KURTZHALS, J. A. L.; CHRISTENSEN, C. B. V.; GAAFAR, A.; MUSTAFA, M. D.; KORDOFANI, A. A. Y.; ISMAIL, A.; KHARAZMI, A.; THEANDER, T. G. Dichotomy of the human t cell response to leishmania antigens. I. th1-like response to *leishmania major* promastigotes antigens in individuals recovered from cutaneous leishmaniasis. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 96, p. 410-415, 1994.

LAFFITTE, E.; GENTONB, B.; PANIZZON, R. G. Cutaneous leishmaniasis caused by

- leishmania tropica*: treatment with oral fluconazole. **Dermatology**, v. 210, p. 249–251, 2005.
- LAINSON, R.; SHAW J. J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. **Nature**, v. 273, p. 595-600, 1978.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. Ecology and epidemiology: new world. In: PETERS, W; KILLICK-KENDRICK, R. **The Leishmaniasis in biology and medicine**. Orlando, Florida: Academic Press, 1987. v. I, cap. 7, p. 291-363.
- LANIADO-LABORÍN, R.; CABRALES-VARGAS, M. N. Amphotericin B: side effects and toxicity. **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 26, n. 4, p. 223–227, 2009.
- LEIBY, D. A.; SCHREIBER, R. D.; NACY, C. A. IFN-gamma produced in vivo during the first two days is critical for resolution of murine *leishmania major* Infections. **Microb. Pathog.**, v. 14, n 6, p. 495-500, 1993.
- LIEW, F. Y.; LI, Y.; MILLOT, S. Tumor necrosis factor α synergizes with IFN- γ in mediating killing of *leishmania major* through the induction of nitric oxide. **J. Immunol.**, v. 145, n. 12, p. 4306-4310, 1990.
- LIMA, E. B.; PORTO, C.; MOTTA, J. O. C.; SAMPAIO, R. N. R. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. **An. Bras. Dermatol.**, v. 82, n. 2, p. 111-124, 2007.
- LUZ, Z. M. P.; SILVA, A. R.; SILVA, F. O.; CALIGIORNE, R. B.; OLIVEIRA, E.; RABELLO, A. Lesion aspirate culture for the diagnosis and isolation of *Leishmania* spp. from patients with cutaneous leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 62-66, 2009.
- MAASHO, K.; SANCHEZ, F.; SCHURR, E.; HAILU, A.; AKUFFO, H. Indications of the protective role of natural killer cells in human cutaneous leishmaniasis in an area of endemicity. **Infect. Immun.**, v. 66, n. 6, p. 2698-2704, 1998.
- MAERTENS, J. A. History of the development of azole derivatives. **Clin. Microbiol. Infect.**; v. 10, p. 1-10, 2004.
- MAGALHÃES, A.V.; CHIARINI, L. H.; RAICK, N. A. Histopatologia da leishmaniose tegumentar. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 24, p. 267-276, 1982.
- MANSON-BAHR, P. E. **Manson's tropical diseases**. 20th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996.
- MANSON-BAHR, P. E. Diagnosis. In: PETERS, W.; KILICH-KENDRICK, R. (Ed.). **The Leishmaniasis**. London: Academic press, 1987. v. 2, p.703-728.
- MARKLE, W. H.; MAKHOUL, K. Cutaneous leishmaniasis: recognition and treatment. **Am. Fam. Physician**, v. 69, n. 6, p. 1455-1460, 2004.
- MAROVICH, M. A.; MACDOWELL, M. A.; THOMAS, E. K.; NUTMAN, T. B. IL-12p70 Production by *Leishmania major*-Harboring Human Dendritic Cells is a CD40/CD40 Ligand-Dependent Process. **J. Immunol.**, v. 164, n. 11, p. 5858-5865, 2000.

MARSDEN, P. D. Pentavalent antimonials: old drugs for new diseases. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 18, p. 187-198, 1985.

MARZOCHI, M. C. As Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **J. Bras. Med.**, v. 63, p. 82-104, 1992.

MARZOCHI, M. C.; COUTINHO, S. G.; SABROZA, P. C.; SOUZA, W. J. Indirect immunofluorescence reaction and intradermoreaction for American Cutaneous leishmaniasis in residents of the Jacarepagua region (Rio de Janeiro). Comparative study of results observed in 1974 and 1978. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 22, p. 149-155, 1980.

MAUEL, J.; CORRADIN, S. B.; ROUILLER, Y. B. Nitrogen and oxygen metabolites and the killing of leishmania by activated murine macrophages. **Res. Immunol.**, v. 142, n. 7, p. 577-580, 1991.

MAYRINK, W.; COSTA, C. A.; MAGALHÃES, P. A.; MELO, M. N.; DIAS, M.; OLIVEIRA-LIMA, A.; MICHALICK, M. S.; WILLIAM, P. A field trial of a vaccine against American Dermal Leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 73, n. 4, p. 385-387, 1979.

MELO, M. N. **Cultivo de Leishmania em meio definido. Estudo de seus requerimentos nutricionais**. 1982. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais - Brasil, Belo Horizonte, 1982.

MENDONÇA, S. C. F.; DE LUCA, P. M.; MAYRINK, W.; RESTOM, T. G.; CONCEICAO-SILVA, F.; DA-CRUZ, A. M.; ALVARO L.; DA COSTA, C. A. B.; GENARO, O.; TOLEDO, V. P. C. P.; COUTINHO, S. G. Characterization of human T lymphocyte mediated immune responses induced by a vaccine against American Tegumentar Leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, p. 195-201, 1995.

MENDONÇA, S. C. F.; SOUSA, W. J. S.; NUNES, M. P.; MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G. Indirect immunofluorescence test in new world leishmaniasis: serological and clinical relationship. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 83, p. 347-355, 1988.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 3. ed. São Paulo: Michalany, 1998.

MICHALICK, M. S. M. Gênero leishmania. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, 1997. cap. 6, p. 34-40.

MINODIER, P.; NOËL, G.; BLANC, P.; UTERS, M.; RETORNAZ, K.; GARNIER, J. M. Management of cutaneous leishmaniasis in adults and children. **Med. Trop.**, v. 65, n. 5, p. 487-495, 2005.

MISAN, G. M. **Australian Medicines Handbook**. Rossi S, editor. 2006.

MISHRA, J., SAXENA, A., SINGH, S. Chemotherapy of leishmaniasis: past, present and future. **Curr. Med. Chem.**, v. 14, p. 1153-1169, 2007.

MISHRA, M.; BISWAS, U. K.; JHA, A. M.; KHAN, A. B. Amphotericin versus sodium

stibogluconate in first-line treatment of Indian kala-azar. **Lancet**, v. 344, n. 8937, p. 1599-1600, 1994.

MITROPOULOS, P.; KONIDAS, P.; DURKIN-KONIDAS, M. New world cutaneous leishmaniasis- updated review of current and future diagnosis and treatment. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 63, n. 2, p. 309-322, 2010.

MOORE, E. M.; LOCKWOOD, D. N. Treatment of visceral leishmaniasis. **J. Global Infect. Dis.**, v. 2, n. 2, p. 151-158, 2010.

MOORE, E.; O'FLAHERTY, D.; HEUVELMANS, H.; SEAMAN, J.; VEEKEN, H.; DE WIT, S.; DAVIDSON, R. N. Comparison of generic and proprietary sodium stibogluconate for the treatment of visceral leishmaniasis in Kenya. **Bull. World Health Org.**, v. 79, n. 5, p. 388-393, 2001.

MUSSI, S.V.; FERNANDES, A.P.; FERREIRA, L. A. M. Comparative study of the efficacy of formulations containing fluconazole or paromomycin for topical treatment of infections by *Leishmania (Leishmania) major* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Parasitol. Res.** v.100, p.1221–1226, 2007.

MONTE NETO, V. L.; VÉRAS, M. M. S. Leishmaniose Tegumentar Americana: terapêutica com Fluconazol. **Rev. Bras. Med. Fam. e Com.**, v.2, n. 7, 2006.

MORIZOT, G.; DELGIUDICE, P.; CAUMES, E. Healing of old world cutaneous leishmaniasis in travelers treated with fluconazole: drug effect or spontaneous evolution? **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, p. 48–52, 2007.

MURRAY, H. W.; RUBIN, B. Y.; ROTHERMEL, C. D. Killing of intracellular *Leishmania donovani* by lymphokine-stimulated human mononuclear phagocytes evidence that interferon-gamma is activating Lymphokine. **J. Clin. Invest.**, v. 72, p.1506-1510, 1983.

NATHAN, C. F.; MURRAY, H. W.; WIEB, M. E.; RUBIN, B. Y. Identification of Interferon-gamma as the Lymphokine that Activates Human Macrophage Oxidative Metabolism and Antimicrobial Activity. **J. Exp. Med.**, v. 158, n. 3, p. 670-689, 1983.

NAVIN, T. R.; ARANA, B. A.; ARANA, F. E.; De MERIDA, A. A.; CASTILHO, A. L.; POZUELOS, J. L. Placebo controlled clinical trial of meglumina antimonite (Glucantime). Localized controlled heat in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 42, n. 1, p. 43-50, 1990.

NEVA, F. A.; PONCE, C.; PONCE, E.; KREUTZER, R.; MODABBER, F.; OLLIARO, P. Non-ulcerative cutaneous leishmaniasis in Honduras fails to respond to topical Paromomycin. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 4, p. 473-475, 1997.

NOBEN-TRAUTH, N.; HU-LI, J.; PAUL, W. E. Conventional naïve cd4+ t-cells provide an initial source of il-4 during th2 differentiation. **J. Immunol.**, v. 165, n. 7, p. 3620-3625, 2000.

NOBRE, M. O.; NASCENTE, P. S.; MEIRELES, M. C.; FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 175-184, 2002.

OLIVEIRA LIMA, J. W. **Domestic transmission of cutaneous leishmaniasis in Brazil.** 1995. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Harvard School of Public Health, Boston 1995.

OLIVEIRA-NETO, M. P.; SCHUBACH, A.; MATTOS, M.; DA COSTA, S. C.; PIRMEZ, C. Intralesional therapy of American Cutaneous Leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil – in area of *Leishmania (V.) braziliensis* transmission. **Int. J. Dermatol.**, v. 36, n. 6, p. 463-468, 1997.

OLIVIER, M.; GREGORY, G. J.; FORGET, G. Subversion mechanisms by which *leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 18, n. 2, p. 293–305, 2005.

OSORIO, L. E.; CASTILLO, C. M.; OCHOA, M. T. Mucosal leishmaniasis due to *leishmania viannia panamensis* in Colombia: clinical characteristics. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, n. 1, p. 49–52, 1998.

OUELLETTE, M.; DRUMME, L.; SMITH, J.; PAPADOPOULOU, B. Leishmaniasis- drugs in the clinic, resistance and new developments. **Drug Resist. Update**, v. 7, n. 4-5, p. 257-266, 2004.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B. Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. **Vaccine**, v. 26, p. 1709-1724, 2008.

PANOSIAN, C. B.; BARZA, M.; SZOKA, F.; WYLER, D. J. Treatment of experimental cutaneous leishmaniasis with liposome-intercalated amphotericin B. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 25, n. 5, p. 655-656, 1984.

PARIS, C.; LOISEAU, P. M.; BORIES, C.; BREARD, J. Miltefosine induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 48, p. 852-859, 2004.

PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. Leishmania species: visceral (Kala-azar), cutaneous and mucosal leishmaniasis. In: MANDELL, G. L.; BENNET, J. R.; DOLIN, R. (Eds.). **MANDEL, DOUGLAS and BENETT'S Principles and practice of infectious disease.** 4 ed. New York: Churchill Livingstone, 1994. v. 2, p. 2428-2441.

PESSOA, S. B.; LOPES, J. A. S. Sobre a intradermorreação de Montenegro em região endêmica de leishmaniose tegumentar e visceral. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 5, n. 4, p. 170-175, 1963.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A.V. **Pessoa Parasitologia Médica.** 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978, p. 83.

PIEDRAFITA, D.; PROUDFOOT, L.; NIKOLAEV, A. V.; XU, D.; SANDS, W.; FENG, G. J.; THOMAS, E.; BREWER, J.; FERGUSON, M. A.; ALEXANDER, J.; LIEW, F. Y.. Regulation of Macrophage IL-12 synthesis by *Leishmania* Phosphoglycans. **Eur. J. Immunol.**, v. 29, n. 1, p. 235-244, 1999.

PISCOPO, T. V.; MALLIA, A. C. leishmaniasis. **Postgrad. Med. J.**, v. 82, p. 649–665, 2006.

POINAR Jr., G. *Lutzomyia adiketis* sp. n. (Diptera: Phlebotomidae), a vector of *Paleoleishmania neotropicum* sp. n. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Dominican amber. **Parasit. Vectors**, v. 1, p. 22, 2008.

POMPEU, M. L. **Avaliação da resposta imunitária linfocitária inicial na leishmaniose humana**. 2001. Tese (Doutorado em Patologia Humana) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.

POMPEU, M. L.; FREITAS, L. A. R.; SANTOS, M. L. V.; KHOURI, M.; BARRAL-NETTO, M. Granulocytes in the Inflammatory Process of BAL/c Mice Infected by *Leishmania amazonensis*. A quantitative Approach. **Acta Trop.**, v. 48, p. 185-193, 1991

QUEIROZ, R.G.; VASCONCELOS, I. A. B.; VASCONCELOS, A.W.; PESSOA, F.A.C.; SOUSA, R.N.; DAVID, J.R. Cutaneous Leishmaniasis in Ceará State in Northeastern Brazil Incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psycodidae) as vector of *L. braziliensis* in Baturite Municipality. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**; v. 50, n. 6, p. 693-698, 1994.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH J. Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.97, Suppl. 1, pag.17-28, 2003.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; DE JESÚS, M. N.; MARZAL, P. C. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: Estado da arte. **Quim. Nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER. S. Cutaneous leishmaniasis. **Lancet Infect. Dis.**, v. 7, p. 581-596, 2007.

RIBEIRO, J. M. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? **Infect. Agents Dis.**, v. 4, n. 3, p. 143-152, 1995.

RIDLEY, D. S.; MAGALHÃES, A. V.; MARSDEN, P. D. Histological analysis and the pathogenesis of Mucocutaneous Leishmaniasis. **J. Pathol.**, v. 159, p. 293-299, 1989.

RIDLEY, D. S.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; BARRETO, A. C. A. Histological classification of Mucocutaneous Leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 74, p. 508-514, 1980.

ROBERTS, C. W.; McLEOD, R.; RICE, D. W.; GINGER, M.; CHANCE, M. L.; GOAD, L. J. Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and Trypanosomatidae parasitic protozoa. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 126, n. 2, p. 129-142, 2003.

ROBERTS, M. T. M. Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. **Br. Med. Bull.**, v. 75/76, n. 1, p. 115–130, 2006.

ROCHA, P. N.; ALMEIDA, R. P.; BACELLAR, O.; RIBEIRO-DE-JESUS, A.; CORREIA

FILHO, D.; CRUZ FILHO A.; BARRAL, A.; COFFMAN, R. L.; MARCELO, E. M.; Down-Regulation of Th1 Type of Response in Early Human American Cutaneous Leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 180, p. 1731-1734, 1999.

RODRIGUES, E. H. G. **Validação de abordagens moleculares para o diagnóstico da leishmaniose Tegumentar americana em Pernambuco.** 2000. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva). Centro de Pesquisas Ageu Magalhães – CPqAM da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/MS, Recife, 2000.

ROJAS, E.; SCORZA, J. V. *Leishmania braziliensis*: aislamiento de lesiones por inoculación de hámsteres con o sin adición de lisado de glándulas salivares de *Lutzomyia youngi*. **Rev. Saúde Pública.**; v. 29, n. 1, p. 1-5, 1995.

SALAH, B.; ZAKRAQUI, A.; ZAATOUR H.; FTAITI, A.; ZAAFOURI, B.; GARRAQUI, A.; OLLIARO, P. L.; DELLAGI, K.; ISMAIL, R. A Randomized, Placebo-Controlled Trial in Tunisia Treating Cutaneous Leishmaniasis with Paromomycin Ointment. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**; v. 53, n. 2, p. 162-166, 1995.

SAMPAIO, R. N. R.; MARSDEN, P. D. Mucosa leishmaniasis unresponsive to Glucantime therapy successfully treated with Ambisome. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 1, p. 77, 1997.

SANDS, M.; KRON, M. A.; BROWN, R. B. Pentamidine: a review. **Rev. Infect. Dis.**, v. 7, p. 625-633, 1985.

SANTOS, D. O.; COUTINHO, C. E. R.; MADEIRA, M. F.; BOTTINO, C. G.; VIEIRA, R. T.; NASCIMENTO, S. B.; BERNARDINO, A.; BOURGUIGNON, S. C.; SUZANA CORTE-REAL, S.; PINHO, R. T.; CARLOS RANGEL RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. Leishmaniasis treatment - a challenge that remains: a review. **Parasitol. Res.**, v. 103, p. 1-10, 2008.

SANTOS, S.O.; ARIAS, J. A.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMANN, M. P.; FREITAS, T. A.; MALACCO, M. A. F. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. **Med. Vet. Entomol.**, v. 12, p. 315-317, 1998.

SCHARTON-KERSTEN, T.; SCOTT, P. The role of the innate immune response in th1 cell development following *leishmania major* infection. **J. Leukoc. Biol.**, v. 57, p. 515-522, 1995.

SCHIMDT-OTT, R.; KLENNER, T.; OVERATH, P.; AEBISCHER, T. Topical treatment with hexadecylphosphocoline efficiently reduces parasite burden in experimental cutaneous leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 93, n. 1, p. 85-90, 1999.

SCOTT, P.; PEARCE, E.; CHEEVER, A. W.; COFFMAN, R. L.; SHER, A. Role of cytokines and CD4+ T-cell subsets in the regulation of parasite immunity and disease. **Immunol. Rev.**, v. 112, p. 161-182, 1989.

SCOTT, P.; NATOVITZ, P.; COFFMAN, R. L.; PEARCE, E.; SHER, A. Immunoregulation of Cutaneous Leishmaniasis. T Cell Lines that Transfer Protective Immunity or Exacerbation belong to Different T Helper Subsets and respond to Distinct Parasite Antigens. **J. Exp.**

Med., v. 168, n. 5, p.1675-1684, 1988.

SHARMA, U.; SINGH, S. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. **J. Vector Borne Dis.**, v. 45, p. 255–272, 2008.

SHAW, J. Ecological and evolutionary pressures on leishmanial parasites. **Braz. J. Genet.**, v. 20, n. 1, p. 123-128, 1997.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. Leishmaniasis in Brazil: Some observations on intradermal reactions to different Trypanosomatidae antigens of patients suffering from Cutaneous and Mucocutaneous leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 69, p. 323-335, 1975.

SILVA, C. G. L. **Apresentação e avaliação de aspectos clínico-epidemiológicos e histopatológicos de lesões em pacientes com leishmaniose tegumentar americana (LTA), forma ulcerada, provenientes de áreas endêmicas da região do cariri.** 2004. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical). Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

SILVA, D. B. Leishmaniose Anérgica Hansenóide. **Ana. Bras. Dermatol.**, v. 57, n. 3, p. 147-150, 1982.

SILVA, F. **Forma raríssima de leishmaniose tegumentar: leishmaniose dérmica não ulcerada em nódulos e extensas placas infiltradas e hiperpigmentadas.** In: REUNIÃO ANUAL DOS DERMATO-SIFILÓGRAFOS BRASILEIROS, 1., 1945. **Anais...** Rio de Janeiro Sociedade Brasileira de Dermatologia e Sifilografia, 1945. p. 97-103.

SILVA, J. R.; PERYASSÚ, D. **Leishmaniose autóctone com 26 anos de duração e ainda em atividade.** In: REUNIÃO ANUAL DOS DERMATO-SIFILÓGRAFOS BRASILEIROS, 1., 1945. **Anais...** Rio de Janeiro Sociedade Brasileira de Dermatologia e Sifilografia, 1945. p. 95-97.

SILVA-VERGARA, M. L.; SILVA, L. A.; MANEIRA, F. R.; SILVA, A. G.; PRATA, A. Azithromycin in the treatment of mucosal leishmaniasis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 46, n. 3, p. 175-177, 2004.

SINHA, P. K.; PANDEY, K.; BHATTACHARYA, S. K. Diagnosis & management of leishmania/HIV co-infection. **Ind. J. Med. Res.**, v. 121, p. 407-414, 2005.

SOTO, J.; TOLEDO, J.; GUTIERREZ, P.; NICHOLLS, R. S.; PADILLA, J.; ENGEL, C.; FISCHER, C.; VOSS, A.; BERMAN, J. Treatment of American Cutaneous Leishmaniasis with Miltefosine, an oral agent. **Clin. Infect. Dis.**, v. 33:e57–61, 2001.

SOTO, J.; FUYA, P.; HERRERA, R.; BERMAN, J. Topical paromomycin/methylbenzethonium chloride plus parenteral meglumina antimonite as treatment for American Cutaneous Leishmaniasis: controlled study. **Clin. Infect. Dis.**, v. 26, n. 1, p. 56-58, 1998.

SOUSA, A. Q.; FRUTUOSO, M. S.; MORAES, E. A.; PEARSON, R. D.; POMPEU, M. M. L. High-dose oral fluconazole therapy effective for cutaneous leishmaniasis due to *leishmania (Vianna) braziliensis*. **Clin. Infect. Dis.**, v. 53, n. 7, p. 693–695, 2011.

SOUSA, A. Q.; PARISE, M. E.; POMPEU, M. M.; COELHO-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, I. A.; LIMA, J. W.; OLIVEIRA, E. G.; VASCONCELOS, A. W.; DAVID, J. R.; MAGUIRE, J. H. Bubonic leishmaniasis - A common manifestation of *Leishmania viannia braziliensis* infection in Ceará – Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, n. 4, p. 380-385, 1995.

SOUZA, A. I.; NUNES, V. L. B.; BORRALHO, V.M.; ISHIKAWA, E. A. Y. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul State, Brazil - a case report. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.**, v.15, n. 2, p. 359-365, 2009.

SUNDAR, S.; RAI, M. Advances in the treatment of leishmaniasis. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 15, n. 6, p. 593-598, 2002.

SUTTERWALA, F. S.; MOSSER, D. M. The Taming of IL-12: suppressing the production of proinflammatory cytokines. **J. Leukoc. Biol.**, v. 65, p. 543-551, 1999.

TAKAYAMA, K.; YOKOZEKI, H.; GHOREISHI, M.; SATHO, T.; KATAYAMA, I.; UMEDA, T.; NISHIKA, K. IL-4 Inhibits The migration of Human Langerhans Cells through the Down Regulation of TNF Receptor II Expression. **J. Invest. Dermatol.**, v. 113, n. 4, p. 541-546, 1999.

TALHARI, S. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. Resultados preliminares com Pentamidina. **An. Bras. Derm.**, v. 60, p. 361-364, 1985.

THAKUR, C. P.; SINHA, P. K.; SINGH, R. K.; HASSAN, S. M.; NARAIN, S. Miltefosine in a case of Visceral Leishmaniasis with HIV co-infection and rising incidence of this disease in India. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 94, p. 696–697, 2000.

THAKUR, C.P.; SINGH, R. K.; HASSAN, S. M.; KUMAR, R.; NARAIN, S.; KUMAR, A. Amphotericin B deoxycholate treatment of visceral leishmaniasis with newer modes of administration and precautions: a study of 938 cases. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 93, n. 3, p. 319-323, 1999.

TOLOSA, E. M. C; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003.

TORRES, D. C. **Caracterização molecular de isolados clínicos de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania guyanensis* e sua associação com a resposta terapêutica ao antimoniato de meglumina no Brasil**. 141 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

TRAVI, B. L.; OSORIO, Y. O.; MELBY, P. C.; CHANDRASEKAR, B.; ARTEAGA, L.; SARAVIA, N. G. Gender is a major determinant of the clinical evolution and immune response in hamsters infected with *leishmania* spp. **Infect. Immun.**, v. 70, n. 5, p. 2288–2296, 2002.

VASCONCELLOS, C.; SOTTO, M. N. Experimental cutaneous leishmaniasis: transmission electron microscopy of the inoculation site. **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 78, p. 81-89, 1997.

VASCONCELOS, I.A.B. **Epidemiologie de la leishmaniose cutanne dans um foyer de l'etat du cera (Bresil). Definition des parasites impliquees.** 1996. 280 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - L'Universite Paris XII, Paris, 1996.

VELASCO-CASTREJON, O.; WALTON, B. C.; RIVAS-SANCHEZ, B.; GARCIA, M. F.; LAZARO, G. J.; HOBART, O.; ROLDAN, S.; FLORIANI-VERDUGO, J.; MUNGUIA-SALDANA, A.; BERZALUCE, R. Treatment of cutaneous leishmaniasis with localized current field (radio frequency) in Tabasco, Mexico. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 57, n. 3, p. 309-312, 1997.

WALTON, B. C. American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis clinical aspects and control. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. **The Leishmaniasis in biology and medicine.** Orlando, Florida: Academic Press, 1987. v. 2, p. 637.

WANKE, N. C. F.; BIRKENHAUER, M. C.; MACIEIRA, J. M. P.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; PEREZ, M. Leishmaniose tegumentar - estudo retrospectivo de 65 casos. **An. Bras. Dermatol.**, v. 66, p. 49-54, 1991.

WARBURG, A.; SCHLEIN, Y. The Effect of post-blood meal nutrition of *phlebotomus papatasi* on the transmission of *Leishmania major*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 35, n. 5, p. 926-930, 1986.

WEINA, P. J.; NEAFIE, R. C.; WORTMANN, G.; POLHEMUS, M.; ARONSON, N. E. Old world leishmaniasis: an emerging infection among deployed US military and civilian workers. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, p. 1674-1680, 2004.

WELDON, J. S.; MUNNELL, J. F.; WILLIAM, L.; HANSON, W. L.; ALVING, C. R. Liposomal chemotherapy in visceral leishmaniasis: An ultrastructural study of an intracellular pathway. **Parasitol. Res.**, v. 69, n. 4, p. 415-424, 1983.

WHEELER, R. J.; GLUENZ, E.; GULL, K. The cell cycle of *Leishmania*: morphogenetic events and their implications for parasite biology. **Mol. Microbiol.**, v. 79, n. 3, p. 647-662, 2011.

WHITTINGHAM, H. E. Life-history of the sandfly *Phlebotomus papatasi*. **Proc R Soc Med.**; v.16, n. 45, 1923.

WILLIAMS, P. Phlebotomidae. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana.** São Paulo: Atheneu, 1997. cap. 39, p. 370-382, 1997.

YARDLEY, V.; ORTUNO, N.; LLANOS-CUENTAS, A.; CHAPPUIS, F.; DONCKER, S. D.; RAMIREZ, L.; CROFT S.; AREVALO, J.; ADAUI, V.; BERMUDEZ. H.; DECUYPERE. S.; DUJARDIN, J. C. American Tegumentary Leishmaniasis: is antimonial treatment outcome related with parasite drug susceptibility? **J. Infect. Dis.**, v. 194, n. 8, p. 168-175, 2006.

ZERPA, O.; BLANCO, B.; KANNEE, C.; ULRICH, M.; SINDERMANN, H.; ENGEL, J.; CONVIT, J. Treatment of diffuse cutaneous leishmaniasis with Miltefosine: a case report. **Int. J. Dermatol.**, v. 45, n. 6, p. 751-753, 2006.

APÊNDICE A

PESQUISA: Avaliação da eficácia terapêutica do Fluconazol® na leishmaniose tegumentar humana

FICHA PARA COLETA DE DADOS DE PACIENTES COM LTA

1. IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Identificador da pesquisa: _____ Nº do prontuário/hospital: _____

Data da inclusão no estudo: ____/____/____ Nome (abreviado): _____

Condição de atendimento:

Ambulatório () Internamento() enfermaria: _____ Leito: _____

Endereço: _____

Telefones: _____

2. DADOS SOCIO ECONÔMICOS, DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS

Sexo: M () F() Idade: _____

Escolaridade: _____ Atividade: _____

Procedência (local onde reside no momento da inclusão na pesquisa)

Capital () outra cidade() Município/Localidade: _____

É área endêmica? Não () Sim ()

Contato com área endêmica

Realizou alguma viagem ou deslocamento nos três meses que antecederam o aparecimento das(s) lesão(ões)? Não () Sim () para qual(is) localidade(s) (distrito, município ou estado)? _____

3. ACHADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS:

3.1. Teste de Montenegro: negativo (<5mm) () _____

positivo (≥5mm) () tamanho da endureção: _____

3.2. Imprint: negativo (amastigota ausente) () positivo – amastigota presente: ()

3.3. Biopsia: negativa (amastigota ausente) () positiva – amastigotas presente: ()

3.4. Cultura: negativa (promastigota ausente) () positiva – promastigota presente: ()
inconclusiva (contaminada) ()

3.5. Numero de lesões:

3.6. Tempo das lesões (de quando foi observado o aparecimento das lesões até a data da entrevista):

3.7. Apresenta lesão mucosa? Não () Sim () localização: _____

3.8. Apresenta adenomegalia? Não () Sim () localização: _____

3.9. Presença de infecção secundária? Não () Sim ()

3.10. Prescrito antibiótico? Não () Sim () Qual e sob que esquema terapêutico?

4. DADOS SOBRE O TRATAMENTO E ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE

Pela randomização e pelos critérios de exclusão, o paciente foi incluído em qual grupo de tratamento?

GRUPO I (FLUCONAZOL) ()

GRUPO II (GLUCANTIME®) ()

Início do tratamento: ___/___/_____ fim do tratamento: ___/___/_____

[Atenção! GI (fluconazol) 42 dias de tto (6 semanas); GII (GLUCANTIME®): 20 dias de tto]

Teve que descontinuar, interromper ou modificar o tratamento em decorrência de efeitos colaterais?

Não () Sim () Quais?

1. DERMATITE ALÉRGICA
2. CARDITE
3. HEPATOPATIA
4. INSUFICIÊNCIA RENAL
5. OUTRAS REAÇÕES ADVERSAS

RESULTADOS DOS EXAMES PRÉ-TRATAMENTO:

HEMOGRAMA (campos numéricos):

1. HT
2. HB
3. HC
4. LEUCÓCITO
5. PLAQUETAS

BIOQUÍMICA (campos numéricos)

1. TGO
2. TGP
3. URÉIA
4. CREATININA
5. GLICOSE

ELECARDIOGRAMA

1. NORMAL
2. ANORMAL

EXAMES DE ACOMPANHAMENTO**HEMOGRAMA** (campos numéricos)

6. HT
7. HB
8. HC
9. LEUCÓCITO
10. PLAQUETAS

BIOQUÍMICA (campos numéricos):

6. TGO
7. TGP
8. URÉIA
9. CREATININA
10. GLICOSE

ELECARDIOGRAMA

3. NORMAL
4. ANORMAL

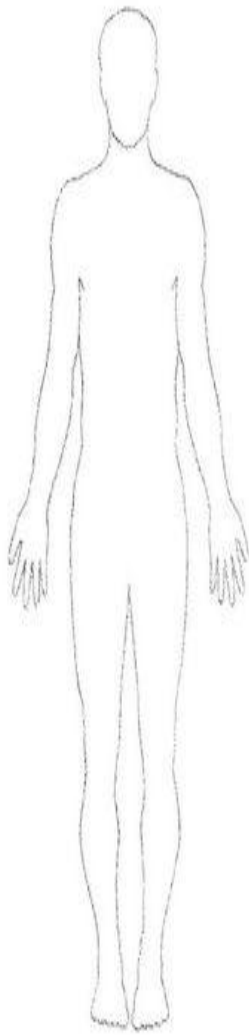
EVOLUÇÃO DA(S) LESÃO (ÕES)

1. Cicatrização completa ()
 Antes do final do tratamento () Com quantos dias?
 Ao final do tratamento completo ()
2. Cicatrização parcial (melhora do aspecto da lesão) ao final do tratamento ()
3. Não cicatrização até o final do tratamento ()

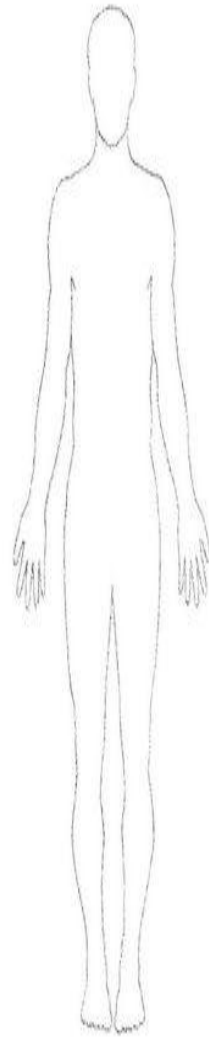
“FOLLOW UP” (RETORNO APÓS TRÊS MESES) – OBSERVAÇÕES

1. CICATRIZAÇÃO COMPLETA SEM RECIDIVA
2. FERIDA AINDA SEM RECUPERAÇÃO COMPLETA
3. RECIDIVA DA LESÃO

Responsável pelo preenchimento: _____



FRENTE



COSTAS

5. DADOS SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICOS

1. NATURALIDADE _____
2. RESIDÊNCIA ATUAL (MUNICÍPIO) _____
3. ZONA rural () urbana ()
4. SÍTIO _____
5. TIPO DE HABITAÇÃO

- . Tijolo com banheiro ()
- . Tijolo sem banheiro ()
- . Taipa com banheiro ()
- . Taipa sem banheiro ()
- . Outra ()

6. LOCAL DO BANHO

- . Banheiro ()
- . Riacho ()
- . Outro ()

7. RENDA FAMILIAR

- . Menor que um salário ()
- . Um salário ()
- . Dois salários ()
- . Três salários ()
- . Mais do que quatro salários ()

8. HÁBITOS

. FUMA: Sim () cigarro, cachimbo, maconha, outro.

Não ()

. BEBE: Sim () cerveja, cachaça, conhaque, rum, whisky, outro

Não ()

9. ENERGIA EM CASA: Sim () Não ()

10. APARELHOS ELETRÔNICOS: geladeira, antena parabólica, som, *freezer*, televisor, rádio.

11. TRANSPORTE: carro, moto, bicicleta, carroça, animal, outro; não dispõe de transporte.

12. RELIGIÃO: católica, evangélica, espírita, candomblé, outra.

13. FREQUÊNCIA AO TEMPLO: diária, semanal, mensal, esporádica.

14. ACREDITA NO PADRE CICERO: Sim () Não ()

15. CONHECE O FLEBÓTOMO: Sim () Não ()
16. QUAL O APELIDO DO FLEBÓTOMO: _____
17. QUAL A CAUSA DA LTA: mandinga, mau olhado, mosquito, trauma, comida, bebida, outra.
18. QUE COMIDA FAZ MAL A DOENÇA: _____
19. QUE BEBIDA FAZ MAL A DOENÇA: _____
20. REZA AJUDA NA CURA: Sim () Não ()
21. QUAL CHÁ QUE FAZ EFEITO: _____
22. FAZER SEXO FAZ MAL: Sim () Não ()
23. POR QUE NÃO FICOU BOA LOGO: _____
24. QUAL A CAUSA DA CURA: _____

APÊNDICE B

PESQUISA: Avaliação da eficácia terapêutica do Fluconazol® na leishmaniose tegumentar humana

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Identificador do paciente na pesquisa: _____

Você está sendo convidado a participar de um estudo em que os pesquisadores querem observar a eficácia de um medicamento chamado Fluconazol® para o tratamento de leishmaniose tegumentar (“ferida braba”), que já foi diagnosticada pelos exames que você realizou.

Caso você aceite participar da pesquisa, receberá um dos tratamentos a seguir:

- 1) o tratamento para “ferida braba” com o medicamento da pesquisa (Fluconazol®)- este medicamento já existe no mercado há vários anos e é usado em vários países uma vez por dia, durante seis semanas seguidas. Você receberá do médico a quantidade de cápsulas suficiente para este tempo de tratamento. Você deverá comparecer ao ambulatório a fim de que seja coletado seu sangue para a realização de exames com vistas a saber se o medicamento está tendo algum efeito ruim sobre o seu fígado e para acompanhamento clínico. O médico assistente, juntamente com o pesquisador, irão avaliar e fotografar a(s) ferida (s) a cada consulta para avaliar se o medicamento está fazendo efeito. Ao final das seis semanas, se a ferida não tiver cicatrizado completamente, ou se os seus exames de sangue apresentarem algum problema ao longo das seis semanas, o tratamento com Fluconazol® será suspenso e você receberá outro tratamento, desta vez com o medicamento preconizado pelo Ministério da Saúde, para o tratamento desta ferida, que é o Glucantime®. Este outro medicamento é aplicado por via intramuscular ou endovenosa, e você terá que comparecer todos os dias ao posto do PSF de sua localidade ou ao Hospital e Maternidade São Vicente de Paulo para tomar esta injeção. O médico acompanhará todo o processo de tratamento até que a ferida cicatrize;
- 2) o tratamento (da “ferida braba”) usado na rotina do Ambulatório de Doenças Tropicais da FAMED Cariri, preconizado pelo Ministério da Saúde é o Glucantime®. Este medicamento é aplicado por via intramuscular ou endovenosa. Você terá de comparecer todos os dias ao posto do PSF de sua localidade ou ao Hospital e Maternidade São Vicente de Paulo para tomar esta injeção. Antes de você tomar a injeção do dia, o médico fará em você uma ausculta cardíaca - ele vai ouvir seu coração - para avaliar se ele está bem. Uma vez por semana, você terá que realizar um exame chamado de eletrocardiograma (ECG), para verificar se o medicamento está causando algum prejuízo ao seu coração e para acompanhamento clínico. O médico acompanhará caso você apresente alterações no ECG.

Por enquanto, nada se pode adiantar sobre o resultado da pesquisa, mas o seu tratamento estará garantido, seja com o medicamento em teste (Fluconazol®), seja com o medicamento que já é usado (Glucantime®), mesmo que você não queira fazer parte do estudo, dependendo de qual medicamento você vai poder tomar.

Caso decida participar da pesquisa, você não receberá nenhum tipo de pagamento, mas também não terá despesas com o tratamento e exames, pois os medicamentos serão dados a você gratuitamente e os exames realizados também serão gratuitos. Você poderá optar por não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento.

Os resultados dos exames e as fotos serão mantidos em sigilo e os pesquisadores não identificarão o paciente quando forem expor ou publicar os resultados. Você poderá ser informado dos resultados da pesquisa a qualquer momento; para isto, entre em contato com o pesquisador Dr. Cláudio Gleidiston Lima da Silva ou o Sr. **Erlon** Cristiano Lavor Oliveira ou a senhora Regilânia Maria de Macêdo, secretária do ambulatório FAMED, ou pelos telefones 33125009 e 33125000. Você poderá ainda procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da FAMED Cariri (fone: 33125002) se quiser esclarecer alguma dúvida sobre a ética da pesquisa ou apresentar reclamações em relação a este estudo.

Declaração

Eu, _____, aceito participar do projeto “Avaliação da eficácia terapêutica do fluconazol na leishmaniose tegumentar humana causada por *Leishmanias braziliensis*” e declaro que fui adequadamente informado sobre a pesquisa.

Barbalha, _____ de _____ de _____.

Assinatura do paciente ou responsável pelo paciente

Assinatura do pesquisador

Polegar direito