



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA-**  
**PPGIBA**

**TERMOTERAPIA POR RADIOFREQUÊNCIA: UM TRATAMENTO  
ALTERNATIVO PARA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NO AMAZONAS**

**ERIKA OLIVEIRA DA SILVA**

**MANAUS - 2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA-  
PPGIBA**

**TERMOTERAPIA POR RADIOFREQUÊNCIA: UM TRATAMENTO  
ALTERNATIVO PARA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NO AMAZONAS**

**ERIKA OLIVEIRA DA SILVA**

Projeto de defesa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Imunologia.

Orientador: Antonia Maria Ramos Franco, PhD, INPA

Co-orientadora: Thaís Tibery Espir, PhD, UFAM

Colaboração: Peter Kima, PhD, UF, EUA

Jorge Clarêncio de Souza Andrade, PhD, FIOCRUZ/BA

Salvatore Giovanni De Simone, PhD, FIOCRUZ/RJ

**MANAUS - 2018**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586t Silva, Erika Oliveira da  
Termoterapia por radiofrequência: Um tratamento alternativo para  
Leishmaniose cutânea no Amazonas. / Erika Oliveira da Silva. 2018  
83 f.: 31 cm.

Orientadora: Antonia Maria Ramos Franco  
Coorientadora: Thais Tibery Espir  
Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada)  
Universidade Federal do Amazonas.

1. Leishmaniose cutânea. 2. resposta imune. 3. citocinas. 4.  
Termoterapia. I. Franco, Antonia Maria Ramos II. Universidade  
Federal do Amazonas III. Título

## **DEDICATÓRIA**

*“Dedico este trabalho as pessoas que mais amo na vida: minha linda mãe, **Adelaide**, a minhas irmãs e irmãos e aos portadores de leishmaniose”.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, meu Senhor e pai bondoso, que tanto me abençoa e me protege; Aos pacientes, que sem eles esta dissertação não seria possível. A estes, que em vossas simplicidades e dificuldades, fizeram-se presentes nos acompanhamentos, na esperança de um futuro terapêutico melhor para aqueles que tanto sofrem com essa doença. Guardo todos em meu coração;

À Dr<sup>a</sup> Antonia Franco, a tão admirada e amada por mim, pela pessoa e pesquisadora valorosa que é. Que me deu a oportunidade de fazer parte de uma família de pesquisa no Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas, e pela oportunidade de estar hoje celebrando esta conquista. És uma pessoa de luz!

À Dr<sup>a</sup> Thaís Tibery, linda e inteligente, muito obrigada pelos ensinamentos e críticas construtivas; Ao Dr<sup>o</sup> Jorge Clarêncio, Dr<sup>o</sup> Giovanni e ao Dr<sup>o</sup> Peter Kima, pelas valiosas e necessárias contribuições;

À Dr<sup>a</sup> Maricleide Naiff, Mari linda, sim, a mais linda, que estendeu-me a mão e adotou-me como aluna no circuito da ciência e posteriormente na iniciação científica. E desde então vem me dando os mais enriquecedores conselhos. Um anjo, um instrumento de Deus em minha vida. A do coração mais lindo que já pude conhecer. À senhora toda minha admiração e respeito;

À Dr<sup>a</sup> Francimeire Pinheiro, por ter me pego nos braços muitas vezes e ter me ensinado a ser melhor. Por ter aberto as portas de sua casa tantas vezes para me orientar. És uma pessoa sem igual!

A minha mãe, que me educou com tanta dedicação, e que sempre esteve presente nas reuniões escolares, me protegendo e me apoiando. Que deixava todos os dias um copo com leite morno em cima da mesa, antes de ir e quando retornava das minhas aulas. Mãe, sem você eu nada seria, que orgulho tenho da mãe que és! Obrigada por me ensinar o valor do “estudo”;

Ao meu irmão Marconi, que sempre lia “Histórias da carochinha” pra mim, aquele que me ensinou a somar e subtrair, que esteve sempre ao meu lado, apoiando-me emocionalmente e financeiramente em meus projetos. Aquele que tanto admiro, por ser o mais inteligente, sábio e competente. És minha maior inspiração;

À minha irmã, Luzinelma, por tanto me apoiar e me ajudar nas adversidades. A amo infinitamente;

As minhas irmãs e irmãos, Aurilúcia, Aurineide, Auricleide, Marcos e Márcio, por serem os melhores irmãos que eu poderia ter, pela melhor família (família grande, graças a Deus) não posso imaginar um mundo sem vocês!

Às minhas tias, em especial a Eva - ainda guardo e guardarei eternamente as palavras de apoio que me destes quando decidi vir à Manaus- obrigada;

À minha cunhada, Edvânia, por ser um anjo em nossas vidas!

À todos os meus familiares, sobrinhos e afilhados (as estrelas da minha vida);

Ao meu namorado, Vlademir Casas, que me apoia, me aceita e me faz tão feliz. És o homem mais lindo! Você é um exemplo de filho. Tamanho é o orgulho que sua mãe e pai, Dona Cilde e Seu Veríssimo, *in memorium*, tem de você!

Às minhas amigas-irmãs, Deisy e Samara, por estarem sempre presentes, apesar da distância. Com vocês sou mais forte!

À Dona Luci - coração mais generoso ainda não vi - e à Ingrid karol, que me ajudaram infinitamente. Todo minha gratidão e amor a vocês;

À Andreza, Pauline e Stephany, por terem estado comigo nessa caminhada, nos momentos em que mais precisei;

À toda equipe do município de Rio Preto da Eva, em especial à técnica Flor;

Ao Seu Lourival, seu Lourinho, pela alegria e ajuda;

Ao Cândido, pela paciência e imensa colaboração durante as excursões;

À Universidade Federal do Amazonas;

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Imunologia, pela minha formação;

Ao Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas;

À todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta.

## RESUMO

No Brasil, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) destaca-se por sua ampla distribuição, ocorrendo em todos os Estados da Federação. Em 2015, foram notificados 19.395 casos da doença sendo o Amazonas responsável por 1.713, todos na forma cutânea (SINAN, 2017). Na Amazônia, a LTA é causada por sete espécies de leishmanias [*Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) lindenbergi* e *L. (Leishmania) amazonensis*]. No Brasil o Ministério da Saúde recomenda, como droga de primeira escolha a ser usada no Sistema único de Saúde (SUS), o antimonial pentavalente e o isotionato de pentamidina ou a anfotericina B como segunda opção e Pentoxifilina como imunomodulador. Algumas dessas drogas vêm sendo utilizadas para tratar a Leishmaniose Cutânea (LC) durante décadas, contudo, são tóxicas e requerem duração prolongada do tratamento. Além do mais, parasitos resistentes a estes fármacos têm emergido culminando em progressão da doença. A Termoterapia é um tratamento alternativo para LC, que consiste na propagação de ondas de radiofrequência numa temperatura pré-determinada, localizadas, aplicada em lesões da pele para destruir fisicamente os parasitos sensíveis à temperatura e vem sendo utilizado com sucesso no tratamento para LC em outros países. Esse tratamento proporciona localização precisa e controlada de calor para tratar determinadas doenças de pele seletivamente no tecido. As células anormais e doentes são afetadas pelo calor e sofrem lise, já as células saudáveis circundantes não são afetadas pois temperatura está dentro de uma faixa tolerável. Este é um protocolo de baixo custo e não invasivo, no qual ainda são poucos os estudos relacionados à sua ação nas diferentes formas clínicas da LTA que ocorrem no Brasil, menos ainda quanto ao seu mecanismo de ação e resposta imune. Nesse estudo foram acompanhados 12 pacientes tratados com protocolo termoterápico (ThermoMed Modelo 1.8) por 12 meses para avaliação da eficácia clínica e 16 pacientes com LT, causada por *Leishmania (Viannia) guyanensis*, tratados por antimoniato de meglumina (Glucantime®). Pacientes com lesões únicas ou múltiplas, ambos os gêneros, de 0,5 a 3,0 cm<sup>2</sup> tratados com termoterapia receberam apenas uma única aplicação e obtiveram 58% de cura clínica em até dois meses. O grupo tratado com glucantime® receberam ciclos de (20 mg/kg/dia) e aos 3 meses 100% destes apresentaram resolução das lesões com reepitalização tecidual. Dos pacientes tratado com glucantime foi realizada análise das citocinas pelas técnicas da Citometria de fluxo. A concentração das citocinas pró-inflamatórias (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,0001$ ) entre indivíduos infectados e não infectados (grupo controle). Indica-se o tratamento termoterápico para LC como método alternativo por ter menor custo, e efeito colateral reduzido, sugerindo-se a continuidade de estudos que possam esclarecer se existe uma resposta

espécie específica, direcionando assim a indicação terapêutica de suporte ao tratamento convencional.

**Palavras-chaves:** Leishmaniose cutânea; resposta imune; citocinas, Termoterapia.

## ABSTRACT

In Brazil, American Tegumentary Leishmaniasis (LTA) stands out for its wide distribution, occurring in all states of the Federation. In 2015, 19,395 cases of the disease were reported, and the Amazon was responsible for 1,713, all in cutaneous form (SINAN, 2017). In the Amazon, the LTA is caused by seven species of leishmanias [ *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) lindenbergi* and *L. (Leishmania) amazonensis*]. In Brazil, the Ministry of Health recommends as the first choice drug to be used in the Single Health System (SUS), pentavalent antimonial and pentamidine isethionate or amphotericin B as a second option and Pentoxifylline as immunomodulator. Some of these drugs have been used to treat Cutaneous Leishmaniasis (LC) for decades, yet they are toxic and require prolonged treatment duration. Moreover, parasites resistant to these drugs have emerged culminating in disease progression. Thermo-therapy is an alternative treatment for LC, which consists of the spread of radiofrequency waves at a predetermined, localized temperature, applied to skin lesions to physically destroy the temperature-sensitive parasites and has been successfully used in the treatment for LC in others countries. This treatment provides precise and controlled location of heat to treat certain skin diseases selectively in the tissue. Abnormal and diseased cells are affected by heat and they undergo lysis, since the surrounding healthy cells are not affected because temperature is within a tolerable range. This is a low-cost, non-invasive protocol, in which there are still few studies related to its action in the different clinical forms of LTA that occur in Brazil, even less as regards its mechanism of action and immune response. Twelve patients treated with thermo-therapeutic protocol (ThermoMed Model 1.8) were followed for 12 months to evaluate clinical efficacy and 16 patients with LT, caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis*, treated with meglumine antimoniate (Glucantime®). Patients with single or multiple lesions, both genders, 0.5 to 3.0 cm<sup>2</sup> treated with thermo-therapy received only a single application and achieved 58% clinical cure within two months. The Glucantime® group received cycles of (20 mg / kg / day) and at 3 months 100% of the patients presented resolution of the lesions with tissue re-epithelialization. Of the patients treated with Glucantime®, cytokine analysis was performed by flow cytometry techniques. The concentration of proinflammatory cytokines (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) showed significant differences (p <0.0001) between infected and uninfected individuals (control group). The thermo-therapeutic treatment for LC is indicated as an alternative method because it has a lower cost and a reduced collateral effect, suggesting the continuity of studies that can clarify if there is a specific species response, thus directing the therapeutic indication of support to the conventional treatment.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis; immune response; cytokines, thermo-therapy.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> sp.....	18
<b>Figura 2</b> - Esquema simplificado da Resposta Imune a Leishmaniose.....	21
<b>Figura 3</b> – Fluxograma da Metodologia.....	26
<b>Figura 4</b> - Unidade Básica de Saúde Drº Hamilton Cidade, onde foram realizados os atendimentos no Município de Rio Preto da Eva.....	27
<b>Figura 5</b> - Esquema de diagnóstico e aplicação de termoterapia.....	32
<b>Figura 6</b> - Lesões cutâneas em focinho de hamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> ) inoculados com macerado de biópsia de lesão dos pacientes do Grupo tratado por Termoterapia.....	41
<b>Figura 7</b> - Fluxo de resultados obtidos da avaliação clínica em resposta ao tratamento por Termoterapia e Glucantime®.....	43
<b>Figura 8</b> - Pacientes com cicatrização da lesão em 15, 45 e 60 dias após tratamento Termoterápico.....	44
<b>Figura 9</b> - Representação dos pacientes ao início do tratamento e ao término do protocolo.....	44
<b>Figura 10</b> - Efeito sistêmico da terapia de calor na lesão da leishmaniose cutânea.....	45
<b>Figura 11</b> - Citocinas Dosadas dos Pacientes tratados por Glucantime® antes (AT) e após o tratamento (PT) (3 meses a 12 meses), e grupo controle negativo (CN). ....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01.</b> Casos de Leishmaniose Tegumentar no Amazonas e nos principais Municípios afetados de 2011 a 2017.....	17
<b>Tabela 02-</b> Estudos realizados comparando a eficácia de tratamentos convencionais e Tratamento Termoterápico.....	23
<b>Tabela 03.</b> Características clínicas dos pacientes tratados com termoterapia.....	38
<b>Tabela 04.</b> Dados dos pacientes que receberam Glucantime® como tratamento.....	39
<b>Tabela 05:</b> Comparativo entre tratamentos (Termoterapia e Glucantime®).....	40

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2.0. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1 Aspectos Gerais da Leishmaniose Tegumentar .....	18
2.2 Agentes Etiológicos e Transmissão .....	18
2.3 Aspectos Clínicos da Leishmaniose Tegumentar Americana.....	20
2.4 Resposta Imune e Patogênese da Leishmaniose Tegumentar .....	20
2.5 Tratamento .....	22
2.6 Uso da Termoterapia na LTA e Mecanismo de ação .....	23
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
3.1. Objetivo Geral .....	25
3.2. Objetivos Específicos.....	25
<b>4.0. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
<b>4.1 FLUXOGRAMA</b> .....	<b>27</b>
4.2. Desenho do estudo .....	28
4.3. Área de estudo .....	28
4.4. Cálculo do tamanho da amostra .....	29
4.5 Critérios de Inclusão e Exclusão:.....	29
4.5.1. Critérios de inclusão.....	29
4.5.2 Critérios de exclusão .....	30
4.5.3. Critérios de remoção da pesquisa .....	31
4.5.4. Intervenção .....	31
4.5.5. Coleta de dados e amostras .....	31
<b>5.0. Acompanhamento e resultados</b> .....	<b>32</b>
<b>6. Desfechos</b> .....	<b>34</b>
6.1. Escolha dos desfechos: .....	34
6.2 Desfechos primários .....	34
6.3. Desfechos secundários.....	34
6.4. Definições .....	35
<b>7.0. Indicações terapêuticas no caso de falha ou recidiva:</b> .....	<b>35</b>
7.1. Cronograma de avaliações.....	35
7.2. Procedimentos .....	35
7.3. Manejo dos dados .....	36
<b>8.0. Dosagem de Citocinas por CBA (Cytometric Bead Array):</b> .....	<b>37</b>
<b>9.0. Análises estatísticas</b> .....	<b>37</b>

<b>10.0 RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
<b>10.1 Características clínicas dos pacientes .....</b>	<b>38</b>
<b>10.2. Resposta clínica geral: .....</b>	<b>43</b>
<b>10.3. Resposta sistêmica das citocinas .....</b>	<b>47</b>
<b>10.4. Concentração de citocinas sistêmicas nos pacientes tratados com Glucantime®.....</b>	<b>47</b>
<b>10.4.1. Citocinas Pró-inflamatórias e de Perfil T<sub>H</sub>1.....</b>	<b>47</b>
<b>10.4.2. Citocinas Regulatórias e de Perfil T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17 .....</b>	<b>48</b>
<b>11.0. Descrição de casos clínicos de pacientes tratados por Termoterapia (Série de Casos):.....</b>	<b>49</b>
<b>11.1. ESTUDO DE CASOS.....</b>	<b>49</b>
<b>12.0. DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>13.0. CONCLUSÕES .....</b>	<b>65</b>
<b>14.0. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>72</b>
<b>APÊNDICE I .....</b>	<b>74</b>
<b>APÊNDICE II.....</b>	<b>81</b>

## 1.0 INTRODUÇÃO

Embora estimada como doença de grande relevância para saúde pública entre as doenças infecciosas individuais, que acomete maior número de doentes, a leishmaniose é considerada uma doença negligenciada na discussão das prioridades de doenças tropicais e sua expansão geográfica e crescente urbanização não têm sido acompanhadas por programas de controle eficazes. (HOTEZ, 2006; WHO, 2010; VERMA et al., 2016). Estando entre as doenças Tropicais negligenciadas (DTN) pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e ocupando a categoria de doenças emergentes e sem controle, tendo registrado em 2014 um total de 17.324 casos de Leishmaniose Cutânea (LC), incluindo novos casos e recidivas no Brasil (WHO, 2016).

No Brasil, a Leishmaniose tegumentar americana (LTA) destaca-se por sua ampla distribuição, ocorrendo em todos os Estados da Federação. O Estado do Amazonas notificou 1200 novos casos da doença somente no ano de 2017 e a transmissão ocorreu principalmente nos municípios de Manaus (218 casos), Rio Preto da Eva (200 casos) e Presidente Figueiredo (106 casos), sendo a espécie *Leishmania (Viannia) guyanensis* a mais predominante (SINAN/SVS/MS, 2012; SINAN, 2018).

Na região Norte encontra-se o maior coeficiente de incidência da doença, no ano de 2015 foram 89 casos por 100 mil habitantes, seguida das regiões Centro-Oeste (37,4 casos por 100 mil habitantes e Nordeste (20,4 casos por 100 mil habitantes) de LTA. Entre os anos de 2010 à 2015 o Ministério da Saúde (MS) registrou média anual de 35 mil novos casos da doença no país (MS/SVS, 2016).

As principais formas clínicas da LTA são cutânea e mucosa. A forma cutânea (LC) caracteriza-se por lesões ulceradas, papulosas, nodulares, verrucosas, impetigóides, framboesóides e outros aspectos dermatológicos. As lesões são indolores, únicas, múltiplas, disseminadas ou generalizadas (PAES et al., 2000). Apesar da *L. (V.) braziliensis* estar associada a maioria dos casos de leishmaniose mucosa, há relatos de casos por *L. (V.) guyanensis* no Amazonas (GUERRA et al., 2011). A presença de pápulas satélites às lesões principais é comum e indicaria maior dificuldade na resposta ao tratamento (NACHER et al., 2001; ROUSSEL et al., 2006; ZANDLER et al., 2015).

De modo geral, a cura da leishmaniose cutânea (LC) baseia-se no desenvolvimento de uma resposta imunológica eficaz e equilibrada. Segundo Manual de Vigilância de Leishmaniose do MS (2017) o critério de cura é clínica, sendo este, a cicatrização da lesão, é indicado o acompanhamento regular por 12 meses para verificação da resposta terapêutica e também para a detecção de possível recidiva após terapia inicial bem-sucedida. Entretanto, para fins de encerramento do caso no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), não é necessário aguardar o término do acompanhamento (BRASIL, 2017).

A resposta imune desempenha papel crucial no curso patogênico da doença, uma vez que pode controlar a infecção. Entretanto, já foi demonstrado que *Leishmania* é capaz de direcionar a diferenciação de células T para um perfil de resposta imune, podendo levar à cura ou persistência do parasito (ESPIR et al., 2013; REIS et al., 2006).

O papel preciso de células T CD4<sup>+</sup> em humanos, os seus padrões de citocinas e as vias da resposta imune envolvidos durante e após a terapia da leishmaniose não são completamente entendidos. Drogas Antimoniais Pentavalentes têm sido utilizados para tratar a LC durante décadas, tendo ação tóxica, requerendo durações prolongadas do tratamento, e parasitos resistentes a fármacos vem emergindo como um problema. Pois os mecanismos de ação destas drogas inclui-se efeitos tanto sobre os macrófagos do hospedeiro quanto ao parasito (MINODIER; PAROLA, 2007).

Embora o tratamento para a LTA preconizado pelo MS seja único para todo o país, independente da espécie de *Leishmania* causadora da doença, os efeitos colaterais dos antimoniais são bem conhecidos: toxicidades cardíaca, hepática, pancreática, renal e do sistema músculo-esquelético. A cardiotoxicidade traduz-se, principalmente, por distúrbios da repolarização ventricular, que incluem alterações da onda T (achatamento ou inversão) e aumento do intervalo QT. Essas alterações são dose e tempo dependentes (NEVES et al., 2011).

Tendo em vista os fatores negativos relacionados ao tratamento através das drogas em uso, surge a necessidade de encontrar tratamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais e adversos ao paciente. A terapia de calor, que já vem sendo utilizada há meio século para LC vem demonstrando eficácia e ausência de efeitos adversos (LOBO et al., 2006).

A exemplo disso, Silveira e Brener (1950) descreveram a cura de um doente com LC e com LM (Leishmaniose Mucocutânea) um mês após a indução de calor. Posteriormente em

estudos *in vitro* foi demonstrada a sensibilidade ao calor de várias espécies do Velho e Novo mundo (BERMAN e NEVA, 1981; SACKS et al., 1983). Subsequentemente, Neva et al. (1984), demonstraram que pacientes com Leishmaniose Cutânea difusa (LCD) responderam ao tratamento com aplicação de água aquecida a 39-41 °C. Junaid (1986) utilizou infravermelho a 55°C durante 5 minutos e também relatou a cicatrização das lesões tratadas e não tratadas de pacientes com LC.

Aram e Leibovici (1987), observaram cura da LC com o calor induzido por ultra-som. Navin et al. (1990), realizaram na Guatemala ensaio utilizando o equipamento original ThermoSurgery®. Como controle, um total de 22 pacientes receberam antimonial; esse mesmo número de pacientes receberam tratamento de três semanas com temperatura de 50 °C durante 30 s; e 22 controles de placebo. Velasco-Castrejon et al. (1997), realizaram no México, um estudo de viabilidade utilizando o mesmo equipamento com 201 pacientes com LC, com única aplicação de 50 °C durante 30 segundos na lesão anestesiada, e resultando em mais de 90% de cura.

A Termoterapia (TM) é considerado como um tratamento alternativo para LC. Já existe equipamento disponível e aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA/ Administração de alimentos e drogas), próprio para uso não só para tratar formas cutâneas da Leishmaniose como outras doenças benignas – o ThermoSurgery®. Ensaio clínicos comparando calor local à terapia antimonial sistêmica vem mostrando taxas de cura semelhantes (VELASCO-CASTREJON et al., 1997).

Trata-se de um tratamento eficaz para infecções ocasionadas por *Leishmania*, em infecções por algumas espécies que até o momento foram testadas, comparativamente bem tolerado, não invasivo e rápido para a LC, podendo ser considerado como uma alternativa para o tratamento. Os estudos utilizando a TM são poucos em comparação com o tratamento convencional. Contudo é em breve sessão, dor mínima, simples e barato, sem efeitos colaterais sistêmicos, 85% de efeitos curativos e cicatrizes mínimas (REITHING et al., 2005).

A termoterapia (TM) tem demonstrado eficácia para tratamento de LC, mesmo em comparação com antimoniais, assim como apresentando maior viabilidade econômica em comparação ao tratamento convencional, sobretudo em regiões endêmicas, uma vez que requer apenas uma única aplicação (MONGE-MAILLO e LÓPEZ-VÉLEZ, 2013).

Reafirmando a eficácia do tratamento por Termoterapia Aronson et al. (2010) em Washington, observaram que os indivíduos tratados com o dispositivo de TM mostrou cura semelhante por 2 e 12 meses de acompanhamento, com menos toxicidade sistêmica associada do que aqueles tratados com SSG (estibogluconato de sódio) endovenoso.

Estudo clínico realizado por Lakhali-Naouar (2015), com 54 soldados, demonstrou que as lesões da pele ocasionadas por *L. (L) major*, que foram tratadas por calor com o equipamento ThermoMed (TM) cicatrizaram, verificando-se a cura clínica em taxa semelhante e com menor toxicidade sistêmica quando associada a lesões tratadas com Pentostan endovenoso.

A radiofrequência de calor induzida pela termoterapia tem se mostrado promissora no tratamento de LC em indivíduos imunocompetentes (BENSON et al., 2010; BERZALUCE et al., 1997) em pacientes imunocomprometidos infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) [SATOSKAR et al., 2011]. O tratamento envolveu a emissão controlada e localizada de radiofrequências em lesões durante 60 segundos sob anestesia local usando um gerador de campo de radiofrequência.

Em contribuição, estudo realizado por Lakhali-Naouar (2015), foi visto que a cura da LC é um processo dinâmico que altera as populações de linfócitos e subpopulações de Células T e NK na circulação. A Imunologia de cura, através de tratamentos locais ou sistêmicos, culminou em mudanças semelhantes em frequência, qualidade e capacidade de resposta específica com imunomodulação, possivelmente através de um mecanismo dependente de células T CD8+. Nesse contexto, avaliar o efeito de cicatrização de lesões cutâneas em pacientes portadores de LTA tratados por termoterapia e glucantime no Estado do Amazonas e compreender a dinâmica das alterações imunológicas durante a cura clínica da doença se faz necessário para uma melhor compreensão dos mecanismos protetores utilizados pelo parasito.

## 2.0. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos Gerais da Leishmaniose Tegumentar

As leishmanioses estão presentes nos cinco continentes sendo endêmica em 98 países, com 350 milhões de pessoas vivendo em zonas de risco e mais de 12 milhões de pessoas infectadas. Abrange um complexo de doenças causadas por mais de 20 espécies do gênero *Leishmania* (SILVA, 2014). Nos últimos anos, a globalização econômica e o aumento do fluxo migratório estenderam a distribuição da doença para países desenvolvidos. A doença é considerada um grave problema de Saúde Pública, afetando mais de um bilhão de pessoas no mundo e somando em média 11% da carga global de doenças (DNDi, 2013). No Brasil, a LTA destaca-se por sua ampla distribuição, ocorrendo em todos os Estados da Federação.

**Tabela 01.** Casos de Leishmaniose Tegumentar no Amazonas e nos principais Municípios afetados de 2011 a 2017.

Região e UF	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Recidivos e Abandonos
<b>Amazonas</b>	2.282	2.246	1.429	1.081	1.645	856	1200	9.148
<b>Manaus</b>	752	304	341	448	495	158	218	1964
<b>Rio Preto da Eva</b>	203	420	228	249	247	111	200	1455
<b>Presidente Figueiredo</b>	213	325	180	307	249	158	106	1325

Fonte: Portal Saúde: Ministério da Saúde do Brasil. Acesso em 30/05/2017. Fundação de Vigilância em Saúde, AM, 2018.

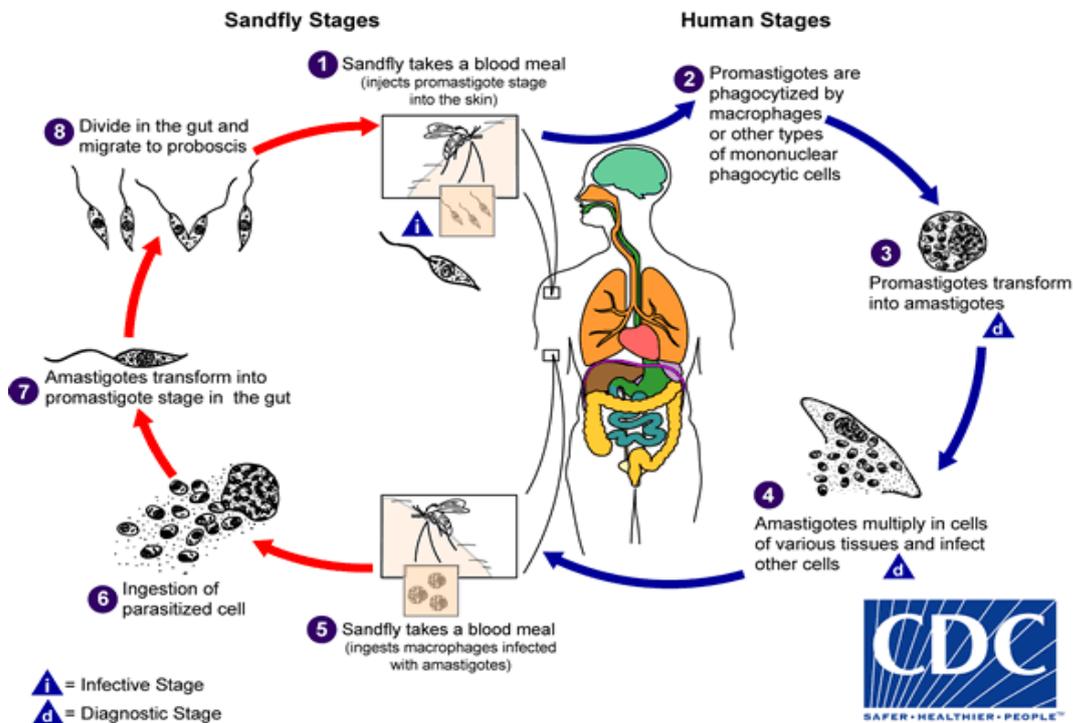
### 2.2 Agentes Etiológicos e Transmissão

Os protozoários causadores da leishmaniose pertencem à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*. Nas Américas são conhecidas atualmente 11 espécies de *Leishmania* dermatrópicas causadoras de doença em humanos (JONES et al., 1987; LAINSON e SHAW, 1987).

No Brasil e na Amazônia a LTA é causada por sete espécies de leishmanias, seis do subgênero *Viannia*, incluindo *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) lindenbergi* e uma do subgênero *Leishmania*, *L. (L.) amazonensis* (SILVEIRA, 2002; 2004). Sendo a *L. (V.) guyanensis* a espécie prevalente no Amazonas, contribuindo com mais de 80% dos casos (NAIFF, 1998; FIGUEIRA et al., 2008; GUERRA et al., 2011).

Todas as espécies de *Leishmania* são transmitidas ao homem por fêmeas infectadas do inseto da família Psychodidae e subfamília Phlebotominae que inocula as formas prosmatigotas metacíclicas na pele durante o repasto sanguíneo. A *Leishmania* apresenta duas formas evolutivas em seu ciclo de vida, a forma promastigota e a amastigota. Promastigotas são encontradas no inseto e podem ser classificadas como procíclicas, que se multiplicam no intestino, ou como metacíclicas infectantes, que são encontrados no tubo digestivo e em partes do intestino anterior do inseto.

Ao picar outro animal e eventualmente o homem, o inseto regurgita o material aspirado misturado com os parasitos e ocorre à inoculação das formas promastigotas metacíclicas infectantes, que são fagocitadas por células fagocíticas do hospedeiro (como os macrófagos) recrutadas ao sítio da infecção. Os parasitos internalizados se diferenciam em amastigotas no interior do fagolisossomo e se multiplicam por divisão binária. Quando a célula hospedeira está altamente parasitada há o rompimento da sua membrana e as amastigotas disseminam-se pelos tecidos infectando novos macrófagos, propagando assim a infecção (KILLICK-KENDRICK e MOLINEUX, 1981; KILLICK-KENDRICK,1981; LAINSON et al., 1987).



**Figura 01.** Ciclo biológico de *Leishmania* sp.

Promastigotas procíclicas diferenciam-se nos flebotomíneos infectados. A forma infectiva ao hospedeiro vertebrado-promastigostas metacíclicas são regurgitadas juntamente com a saliva do vetor. Promastigostas metacíclicas são fagocitadas por macrófagos e por células encontradas no ambiente da inoculação. Após estabelecer uma resistência intracelular, formas promastigostas metacíclicas se transformam em amastigotas e se multiplicam por divisão binária. Ocorre lise nos macrófagos e liberação das amastigotas. Ao realizar o repasto sanguíneo o hospedeiro invertebrado ingere as formas amastigotas. As formas amastigotas se transformam em promastigotas no tubo digestivo do flebotomíneo. As promastigotas se multiplicam por divisão binária e migram para a probóscida do vetor (KAYE; SCOTT, 2011).

### **2.3 Aspectos Clínicos da Leishmaniose Tegumentar Americana**

Em função da diversidade e complexidade biológica do parasito dos vetores e da resposta imune celular do hospedeiro na LTA, diferentes formas clínicas podem se desenvolver convencionalmente conhecidas como: forma mucocutânea (LMC) que pode causar mutilações, a cutânea anérgica difusa (LCAD) que é de longa duração devido à resposta imune mediada por células deficientes, e a forma cutânea (LC), quando em múltiplas lesões que pode ser incapacitante (BRASIL, 2016; SILVEIRA, 2004).

A forma cutânea difusa “borderline” (LCDB) foi proposta como sendo intermediária entre LC e os pólos extremos patogênicos LMC e LCAD (SILVEIRA et al., 2004; 2009). A Leishmaniose Cutânea é a forma mais comum de apresentação da doença, caracterizada por uma lesão de pele benigna, que pode ser autocurável, sendo causada por diferentes espécies de *Leishmania* (CARVALHO et al., 1995). A lesão inicia-se habitualmente com uma área de vermelhidão e edema no sítio de inoculação pelo inseto e depois de 3 a 4 semanas desenvolve-se, na maioria dos casos, uma única úlcera com bordas elevadas, endurecida e eritematosa, onde os parasitos são encontrados, principalmente nas bordas da lesão (MARSDEN, 1985; MARSDEN e JONES, 1985). Em cerca de 3% dos pacientes com LC, os parasitos podem persistir na pele após resolução da úlcera levando o paciente para a forma mais grave da doença, a LM (MARSDEN, 1986).

### **2.4 Resposta Imune e Patogênese da Leishmaniose Tegumentar**

Quando as promastigotas são introduzidas na pele, encontram neste local algumas células do sistema imune (linfócitos T e B, macrófagos residentes, células de Langerhans, mastócitos),

que compõem o sistema imune da pele. Nos macrófagos, os parasitos internalizados ficam dentro de um vacúolo parasitóforo (fagolisossomo), que contém substâncias responsáveis pela destruição de microrganismos. Embora os macrófagos sejam células fagocitárias especializadas no combate a agentes infecciosos, as leishmânias desenvolvem mecanismos de defesa capazes de subverter sua capacidade microbicida, conseguindo sobreviver neste ambiente potencialmente tóxico, e multiplicam-se até a ruptura da célula, quando são liberadas para infectar outros macrófagos, propagando a infecção (BRASIL, 2017).

Estes parasitos poderão ser reconhecidos através dos receptores similares à proteína *Toll* (TLR) que são responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs), como glicolipídeos, peptidoglicanos e lipopeptídeos, que são compartilhados por grandes grupos de microrganismos. A ativação de macrófagos via TLRs aciona a via do NFκB (NF-kappaB), um fator de transcrição que regula a expressão de citocinas pró-inflamatórias como TNF-α e IL-12, e também a produção de óxido nítrico (NO) (BHATTACHARYA et al., 2010).

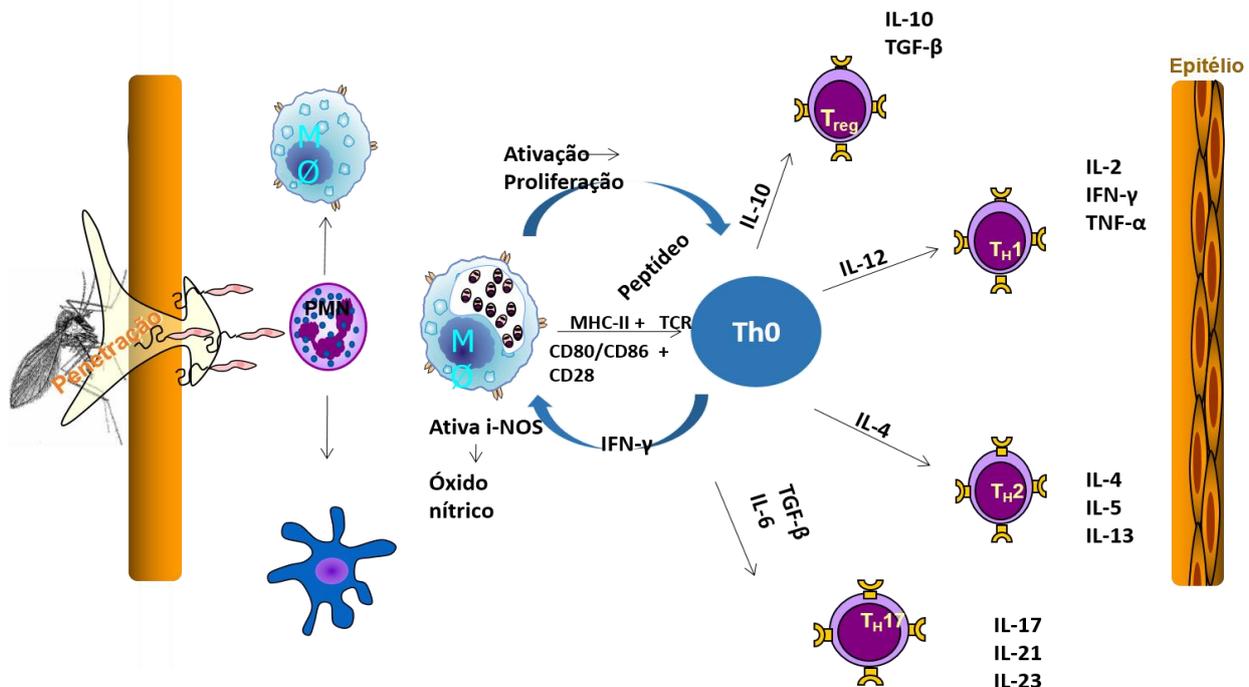
Os parasitos do gênero *Leishmania*, especialmente na LC, induzem um padrão de citocinas pró-inflamatórias relacionadas com o perfil Th1, como IL-12, TNF e IFN-γ, por macrófagos e outras células do sistema imunológico em hospedeiros resistentes (BOGDAN et al., 2012).

A função dos linfócitos T com fenótipo CD4+ (Th1 e Th2) é importante na instalação da doença. Os linfócitos Th1 produzem interferon gama (IFN-γ), IL-2, fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e TNF, que levam a ativação de macrófagos e a destruição dos parasitos. Por outro lado, perfil Th2 com presença de IL-4, IL-5, inibem a ativação dos macrófagos e levam a ativação de linfócitos B, podendo levar a susceptibilidade da doença em modelo experimental (COUTINHO et al., 1996; LIESE; SCHLEICHER; BOGDAN, 2008).

Todavia, resposta imune frente a *Leishmania* é um processo dinâmico, constituído por uma rede complexa de cooperação entre células do sistema imune inato e adaptativo. Deste modo, a participação de fagócitos (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas), células NK, linfócitos T ou B, e de moléculas efetoras como quimiocinas, citocinas e anticorpos específicos determinam o curso clínico da infecção (CARVALHO et al. *apud* SOUZA, 2014). Contudo fatores inerentes ao hospedeiro (como características genéticas e resposta imunológica), ao

parasito (como virulência da espécie de *Leishmania* infectante) e ao vetor (como sua capacidade vetorial) influenciam fortemente na sua patogenicidade (PRATES, 2011 *apud* ESPIR, 2013).

A seguir, esquema da Resposta Imune expresso na figura 02.



**Figura 02.** Esquema simplificado da Resposta Imune a Leishmaniose (Fonte: Adaptação de Alexander; Brombacher, 2012).

## 2.5 Tratamento

O tratamento é baseado em quimioterapia, sobretudo com antimoniais pentavalentes ( $Sb^{+5}$ ), como o Antimoniato de Meglumina ou antimoniato de Nmetilglucamina (Glucantime<sup>®</sup>) e o Estibogluconato de sódio (Pentostan<sup>®</sup>). Ambos apresentam alta toxicidade e inúmeros efeitos colaterais. No Brasil, a droga de primeira escolha é o Glucantime<sup>®</sup>, com o esquema terapêutico composto por dose calculada em miligramas de antimônio pentavalente ( $Sb^{+5}$ ) por quilograma de peso corporal por dia (20 mg  $Sb^{+5}$ /kg/dia) através de injeções intramuscular (IM) ou endovenosa (EV) em ciclos de vinte a trinta dias. O índice de sucesso após um primeiro ciclo de Antimoniato de Meglumina varia de 26% a 100% (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002; RODRIGUES et al., 2006 BRASIL, 2017).

A eficácia do tratamento é um fenômeno complexo que envolve fatores do hospedeiro, como a resposta imunológica, características genéticas do paciente e a forma clínica da doença; vantagens do tratamento, pela qualidade da droga, duração da terapia e efeitos colaterais; e até

mesmo pelas características do parasito, como a espécie e resistência a drogas, que tem aumentado com o uso de antimoniais pentavalentes (ARMIJOS et al., 2004; YARDLEY et al., 2006).

## **2.6 Uso da Termoterapia na LTA e Mecanismo de ação**

A hipertermia com radiofrequência sob lesão cutânea, atualmente é considerada pelo (MS) e Food and drug Administration (FDA) no tratamento da LC, levando as áreas lesionadas temperatura de 40°C e 50°C. Por meio de indução de ondas eletromagnéticas externas o tecido biológico é levado a altas temperaturas de modo localizado, regional e geral. O tecido doente não consegue dissipar o calor, diferente do tecido saudável que não é afetado (MANUAL THERMOMED 1.8, 2016).

O ThermoMed (Modelo 1.8) é um dispositivo operado por bateria que proporciona calor localizado controlado por radiofrequência de campo para destruir determinado tecido doente seletivamente. É equipado com baterias de chumbo-ácido seladas internamente e tem capacidade operacional de cerca de 100 tratamentos individuais de 30 segundos.

O dispositivo destina-se a tratar lesões benignas, indicações dermatológicas que inclui; verrugas, angioma, fibroma, ceratoses seborréicas, queratoses, quelóides, cisto epidermóide, acne cística, leishmaniose tegumentar, micobactérias atípicas, e dermatofitose (MANUAL THERMOMED 1.8, 2016).

Há um aumento da produção de interferon alfa e gama, que potencializam o fator de necrose tumoral, limitando a proliferação celular e aumento da apoptose. Concomitantemente com aumento de proteínas de choque térmico (HSP 72-73), a primeira tem funções citoprotetora e anti-inflamatória e a HSP73 está envolvida no processo de reconstrução tecidual (MANUAL THERMOMED 1.8). Entretanto, Lobo et al. (2005) mostraram que no caso de infecção por *L. (v.) braziliensis* a terapia de calor provoca uma resposta sistêmica de citocinas semelhante à da terapia antimonial (Glucantime).

O ThermoMed tem sido usado mais amplamente para a pesquisa e tratamento da leishmaniose cutânea. Estudo clínico abrangente, coordenado por John David, MD de Harvard e concluído em 2002 (Myler et al., 2005), demonstrou através de seus resultados o sucesso de estudos anteriores realizados com *L.(L.) major* por Oscar Velasco, MD no México, assim como também mostrou que a terapia estimula resposta imunológica à doença por hipertermia. Os

autores constataram que o tratamento Termoterápico foi efetivo com uma única aplicação e avaliaram, perfis de toxicidade. As avaliações diárias dos médicos ocorreram durante o tratamento com avaliação laboratorial e eletrocardiográfica frequentes (BERZUNZA-CRUZ, 2000).

O resultado dos trabalhos já realizados (Tabela 2) tem levado ao uso do protocolo termoterápico para tratamento da LC, uma vez que os pacientes tratados não apresentaram efeitos adversos se comparados à tratamentos convencionais.

**Tabela 02-** Estudos realizados comparando a eficácia de tratamentos convencionais e Tratamento Termoterápico.

<b>Tratamentos</b>	<b>e</b>	<b>Resultados</b>	<b>Espécie</b>	<b>N° Amostral</b>	<b>Referência</b>	
TM (única aplicação)	75%	Glucantime (20 dias)	94%	<i>L. braziliensis</i>	27	Lobo et al, 2006.
TM (única aplicação)	73%	Pentostam (10 dias)	59%	<i>L. (L.) major</i>	27	Aronson et al, 2010.
TM (centro e borda, 24 pacientes)	29%	Miltefosine (20 dias)	60%	<i>L. (V.) panamensis</i>	30	López et al, 2013.
TM (centro e borda, 59 pacientes)	71%	Miltefosine (20 dias)	49%	<i>L. (V.) braziliensis</i>	51	López et al, 2013.
TM (única aplicação)	94%	Intralesional	92%	ND	50	Bumb et al, 2013.
TM (7 aplicações)	60%	Antimonial Pentavalente	84%	<i>L. (V.) peruviana</i>	25	Valencia et al, 2013
TM (única aplicação)	72,2%	Pentostan	70,06%	ND		Cardonas-Arias et al., 2015

TM= Termoterapia; L = *Leishmania*; V= *Viannia*; ND: não definido.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

- Verificar se a termoterapia (radiofrequência) pode ser um método alternativo ao tratamento da leishmaniose cutânea no estado do Amazonas.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Realizar e acompanhar o tratamento termoterápico e com glucantime® em pacientes autóctones do Estado do Amazonas com Leishmaniose cutânea;
- Analisar as concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias, efetoras e reguladoras (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) na infecção por *Leishmania* sp. antes do início e ao término do tratamento;
- Identificar as diferentes manifestações clínicas dos pacientes com Leishmaniose cutânea atendidos e tratados na UBS Dr° Hamilton Cidade;
- Descrever os aspectos clínicos da doença nos pacientes atendidos na UBS Dr° Hamilton Cidade;
- Comparar e avaliar os tratamentos com glucantime® e termoterapia nos pacientes atendidos na UBS Dr° Hamilton Cidade.

#### 4.0. MATERIAL E MÉTODOS

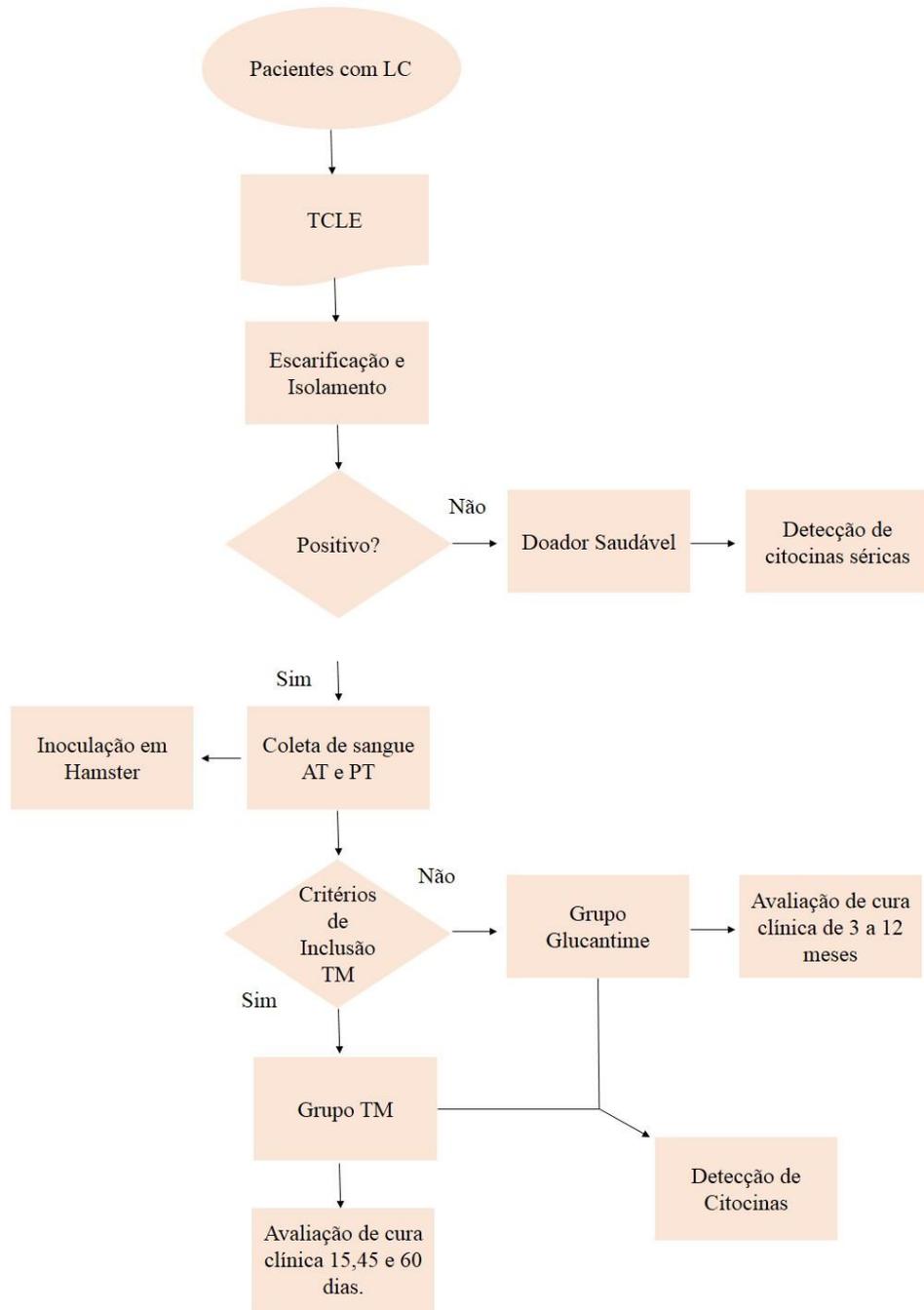
O projeto foi realizado em duas etapas. Primeiro, por meio de atividade em campo, através do deslocamento da equipe de pesquisadores e técnicos até o município de Rio Preto da Eva para atendimento à população infectada. Além do atendimento aos pacientes da Unidade Básica de saúde, também foi realizada busca ativa, tendo em vista a dificuldade logística da população que reside em área rural. Nesse momento foi realizada anamnese e exame físico do paciente, afim de verificar se este apresentava característica clínica da infecção. Em seguida foi realizada entrevista através do questionário de investigação epidemiológica (Apêndice 3), afim de conhecer a história clínica e origem da infecção, levando em consideração as áreas endêmicas visitadas por este antes do aparecimento da lesão. Após estas confirmações foi realizada escarificação da lesão para investigação de amastigotas em lâmina. Por conseguinte a confirmação do diagnóstico feito pelo exame direto, foi realizada a coleta de sangue periférico (10ml), dos pacientes que aceitaram participar do estudo assinando Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Em seguida, todo material foi levado ao Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas do INPA para armazenamento e processamento das amostras, onde são realizados os cultivos para isolamento do parasito, preparo de massa parasitária e testes bioquímicos para identificação da espécie de *Leishmania* e os testes imunológicos para detecção dos níveis de citocinas no plasma humano.

Os pacientes com LC incluídos no tratamento por Termoterapia atenderam aos fatores de inclusão e de exclusão, e foram acompanhados por equipe médica da Unidade Básica de Saúde Drº Hamilton Cidade, em Rio Preto da Eva, AM.

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em humanos CONEPI/BR,Nº 118400/2016.

## 4.1 FLUXOGRAMA



**Figura 03:** Fluxograma da Metodologia. Legenda: TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; PT- após tratamento.

## 4.2. Desenho do estudo

Foi realizado um ensaio clínico de fase III randomizado aberto, visando comparar as diferenças de eficácia e segurança entre termoterapia e Glucantime® realizado no Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Laboratório de Inflamação e Biomarcadores (FIOCRUZ/BA) e UBS Dr° Hamilton Pessoa, Rio Preto da Eva, AM.

## 4.3. Área de estudo

A cidade de Rio Preto da Eva, Amazonas, foi criada na década de 60. Situada próxima ao Km 80 Rodovia AM 010 (3°07'06"S, 59°W), distando 57,5 Km2 da capital do Estado, fazendo parte da Região Metropolitana de Manaus. A população é formada por 26.948 pessoas e apresenta 5.813 Km2 de área territorial, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. A cobertura vegetal é de floresta tropical úmida de terra-firme, apresentando grande diversidade de espécies. O clima é tropical com temperatura média anual oscilando em torno dos 26°C, com precipitação pluviométrica superior a 2.000mm/ano e umidade relativa superior a 80%.

O período de realização foi de junho de 2016 a abril de 2017. Os sujeitos do estudo foram pacientes de ambos os gêneros, com idade de 18 a 60 anos. O local de realização foi a Unidade Básica de Saúde Dr° Hamilton Cidade (Figura 04), serviço de saúde de referência local para o diagnóstico e tratamento da LC.



**Figura 04.** Unidade Básica de Saúde Dr° Hamilton Cidade, onde foram realizados os atendimentos no Município de Rio Preto da Eva.

#### 4.4. Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi calculado assumindo uma eficácia no tratamento com a termoterapia de 78%, e do Glucantime® de 90%. O intervalo de confiança (CI) foi de 95% e potência de 80% (teste de não inferioridade). Para este número de tamanho de amostra, adicionamos 20% para explicar a possível perda de assuntos para acompanhamento. O tamanho total da amostra foi de 12 indivíduos do grupo termoterapia e 16 do grupo Glucantime® para um total de 28 participantes com tratamento concluídos.

Os pressupostos deste tipo de estudo se relacionam com o fato de não ser desejável suspender o desenvolvimento de um tratamento promissor e por outro lado é desejável suspender o estudo o mais rapidamente possível quando o tratamento é ineficaz tendo em vista questões de natureza ética. No caso de observada a ausência de resposta ao tratamento no período de 60 dias os pacientes foram tratados pelo tratamento tradicional de acordo com indicação do (MS). E os pacientes que tiveram exacerbação das lesões após 30 dias, também foram direcionados ao tratamento convencional. Neste caso, após aplicação única e local foi realizado acompanhamento do fechamento e resolução da lesão e da possibilidade de recidivas ou a não resposta ao tratamento após 15, 45 e 60 dias ao tratamento TM. Os pacientes que apresentaram reepitelização tecidual em até 60 dias, foram acompanhados para avaliação clínica por até 12 meses. Todo tratamento foi acompanhado por um médico da Unidade Básica de saúde do Município e de médica Dermatologista e Otorrinolaringologista, do grupo.

**População-alvo:** pacientes com leishmaniose cutânea (LC) confirmada, autóctones, de ambos os gêneros e atendidos na UBS em Rio Preto da Eva, AM.

#### 4.5 Critérios de Inclusão e Exclusão:

##### 4.5.1. Critérios de inclusão

Paciente do gênero masculino ou feminino, com dezoito anos de idade completos ou mais, portador de LC (Leishmaniose Cutânea) causada por *Leishmania* spp. seguindo os critérios clínicos e parasitológicos especificados abaixo:

##### Aspectos clínicos:

- Acometimento cutâneo exclusivo;
- Presença de lesões com até 3,0 cms;

- Pacientes no qual é assegurado o diagnóstico de LC e não malignidade;
- Nenhum tratamento prévio para esta infecção parasitária;
- Sem histórico de tratamento para Leishmaniose e sem uso atual de qualquer substância tópica ou oral.
- Autóctone da Amazônia;
- Casos suspeitos ou confirmados de LC;
- Concessão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em apêndice.

#### **Aspectos parasitológicos:**

- Visualização de amastigotas no exame direto, e/ou
- Visualização de promastigostas na cultura, e/ou
- Isolamento em animal de experimentação (hamster).

#### **4.5.2 Critérios de exclusão**

Não foram inclusos no estudo, os pacientes com um ou mais dos seguintes critérios:

- Pacientes com menos de dezoito anos de idade;
- Lesões cutâneas localizadas a menos de 2 cm do nasal ou oral mucosa, olhos ou perto dos orifícios anal ou urogenital.
- Presença de lesões com mais de 3,0 cms;
- Paciente com marcapasso ou outro dispositivo eletrônico implantável;
- Paciente que tenha implante metálico, por exemplo, nas articulações, metal no crânio, etc.
- Paciente grávida;
- Lesão mucosa;
- Lesão com mais de 12 meses de evolução;
- Quadro clínico recidivado;
- Falha terapêutica com histórico de tratamento prévio;
- Pacientes portadores de arritmias cardíacas;
- Presença de imunossupressão – sorologia positiva para o HIV ou uso de drogas imunossupressoras.
- Pacientes com lesões malignas;

- Aos pacientes que estavam sob uso de medicamentos tópicos ou outras substâncias locais e atenderam aos outros critérios, foram orientados à aguardar 15 dias para realização de exame, afim de evitar-se resultado falso negativo e posterior tratamento termoterápico,

#### **4.5.3. Critérios de remoção da pesquisa**

Em qualquer etapa da pesquisa o paciente pôde pedir para sair do projeto, sem haver qualquer ônus ou prejuízo para o mesmo. A incapacidade de realizar o protocolo de acompanhamento ou ocorrência de eventos adversos. Pacientes que receberam TM e utilizaram outro tipo de tratamento foram removidos do protocolo, porque este fator interferiria em nossa análise quanto à eficácia clínica da terapia estudada. Contudo, estes foram avaliados, tratados com Glucantime® e acompanhados até cura das lesões.

#### **4.5.4. Intervenção**

Termoterapia (Thermomed®, Thermosurgery Inc. Phoenix-EUA). Após a preparação asséptica das lesões e anestesia local com 2% de xilocaína, foi feita uma única sessão de termoterapia ao centro, fronteiras ativas e área periférica das lesões. Cada aplicação térmica foi a 50 ° C e durou 30 segundos; o número de aplicações dependia do tamanho da lesão. Após a sessão de termoterapia e durante os próximos 15 dias, o paciente foi orientado a aplicar uma pomada antibiótica Sulfato de Neomicina + Bacitracina (se necessário, após avaliação médica) sobre as lesões, que foram então cobertas com gaze estéril para prevenir infecções secundárias. O antimoniato de Meglumina (Glucantime®, Aventis, Paris, França) foi administrado por via intramuscular sob supervisão médica numa dose de 20 mg Sb5 / kg / dia durante 20 dias. Todos os pacientes de ambos os grupos retornaram as suas residências durante o período de tratamento e já informados das datas que precisariam retornar para avaliação e coleta de sangue. Alguns destes foram avaliados em seus ramais, por não possuírem condições logísticas de se deslocarem até a UBS.

#### **4.5.5. Coleta de dados e amostras**

Depois de fornecerem o consentimento informado, todas as lesões dos pacientes foram fotodocumentadas. Amostras de tecido foram retiradas para confirmar o diagnóstico e identificação da espécie de *Leishmania* a posteriori.

Foram retiradas amostras clínicas de todos os indivíduos para a confirmação parasitológica da leishmaniose por exame microscópico direto, cultivo em meio de cultura de NNN incubados a 25 ° C e, a partir do quarto dia, foram observados semanalmente por um mês, no microscópio óptico em busca de promastigotas. As culturas foram rotuladas com o código de cada participante e foram armazenadas em racks independentes para evitar a mistura. A cada semana, culturas positivas foram cultivadas em garrafas de 50 mL com meio líquido Soro fetal bovino inativado (SFBi) a 10%, sendo uma parte congelada em nitrogênio líquido e armazenada no Criobanco e a outra foi usada para posterior identificação de espécies;

## 5.0. Acompanhamento e resultados

Os indivíduos que receberam Glucantime® foram avaliados no início e no final do tratamento e 60 dias após a conclusão do tratamento. Os indivíduos que receberam termoterapia foram avaliados no mesmo dia em que iniciaram o tratamento, nos dias 15, 45 e 60, após a aplicação do calor, Embora a termoterapia tenha sido aplicada em uma única sessão, o seguimento do processo de cicatrização das lesões foram realizadas seis semanas após a aplicação, coincidindo com final do grupo que recebeu Glucantime®.

A resposta ao tratamento foi avaliada clinicamente. Para cada lesão, foram utilizadas as seguintes definições:

**Cura inicial:** Reepitelização completa de todas as úlceras e perda completa de induração até 60 dias após o término do tratamento.

**Cura definitiva:** Critérios de cura iniciais sem recorrência após 12 meses a conclusão do tratamento.

**Falha:** Aumento do tamanho de uma lesão de mais de 50% no final do tratamento ou ausência de resposta clínica às 6 semanas (redução do tamanho da lesão inferior a 50% em relação à avaliação no final do tratamento), sinais de atividade da lesão 3 meses após a conclusão do tratamento ou recorrência ou presença de leishmaniose mucosa em qualquer momento após o término do tratamento.

**Recorrência:** Reativação da lesão no local original após a cicatrização.

**Reinfecção:** Presença de novas lesões em um local anatômico diferente das lesões originais após o paciente ter sido considerado curado e depois de retornar às áreas endêmicas.

Em todos os indivíduos que tiveram uma falha no tratamento, o Glucantime® foi fornecido como terapia de resgate a uma dose de 20 mg Sb5 / kg / dia durante 20 dias, de acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde.

## Cuidados

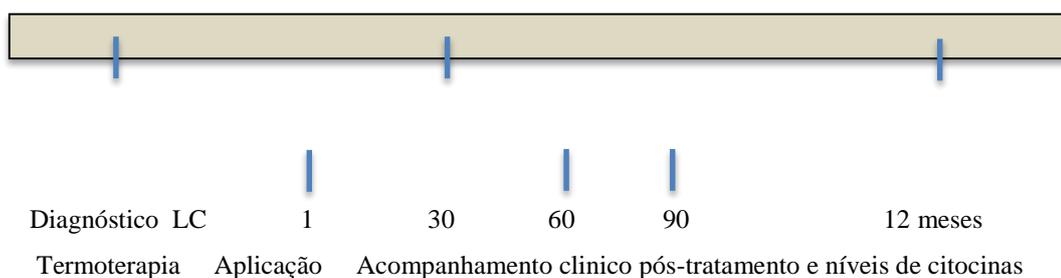
- Antes do tratamento foi feito o diagnóstico parasitológico para confirmação de LC e exames preliminares;
- Ao início do tratamento com o ThermoMed Modelo 1.8 foram removidos objetos metálicos da área, visto que o aparelho emite sinais de rádiofrequência que pode causar interferência eletromagnética em outros equipamentos;
- Evitou-se colocar o aplicador muito próximo aos vasos sanguíneos, porque pode ocasionar necrose e resultar em hemorragia;
- Aplicação uma única vez no local definido;
- A área de aplicação foi limpada com gaze;
- Foi utilizado lidocaína 1 a 2%; repetida assepsia com gaze para remover excesso de umidade;
- Lesões que estivessem secas, eram lavadas com solução salina para aumentar a condutividade;
- O aplicador era autoclavado e colocado em substância esterilizante.

## Etapa 1: Aplicação local de hipertermia:

- Aplicação local numa única sessão 50 °C, 30 segundos;
- Avaliação quanto à resolução da lesão 15, 45 e 60 dias após sessão de tratamento local.

## Etapa 2: Avaliação do tratamento por hipertemia:

- Se houver resolução e reepitelização da lesão (cicatrização e cura clínica) na avaliação no 30º dia, o paciente será acompanhado por mais 60, 90 dias e 12 meses sem nova ou qualquer aplicação do tratamento;
- Caso não houvesse resolução e reepitelização da lesão (cicatrização e cura clínica) na avaliação no 30º dia, o paciente era tratado com droga de primeira escolha indicada pelo Ministério da Saúde.



**Figura 05.** Esquema de diagnóstico e aplicação de termoterapia.

## **6. Desfechos**

### **6.1. Escolha dos desfechos:**

Considerações gerais:

- A leishmaniose cutânea pode curar espontaneamente sem tratamento, mas este tipo de evolução acontece no prazo de meses ou anos e só remotamente durante os primeiros três meses de evolução do quadro, ainda assim, dependendo da forma clínica e espécie de *Leishmania* envolvida na infecção;
- A reepitelização completa das lesões é um ponto de aferição fácil, independentemente da persistência ou não do infiltrado inflamatório, considerada como cura clínica;
- A resposta precoce durante os primeiros 20 dias durante o tratamento com antimoniais pode cursar com aumento do tamanho das lesões que regridem progressivamente após as semanas subsequentes;
- Definições mais rigorosas em relação à celeridade do aparecimento dos sinais de resposta ao tratamento garantem, de uma melhor maneira, a segurança dos pacientes do estudo para o risco de exposição a tratamentos ineficazes.

### **6.2 Desfechos primários**

- Proporção de pacientes com cura precoce (D60).

### **6.3. Desfechos secundários**

- Proporção de pacientes com melhora;
- Proporção de pacientes com falha terapêutica precoce;
- Proporção de pacientes com recidiva;
- Proporção de pacientes com suspensão precoce do tratamento;
- Proporção média de reepitelização da úlcera no 30º dia;
- Proporção média de reepitelização da úlcera no 60º dia;
- Proporção de eventos adversos sérios;
- Proporção e gravidade de eventos adversos clínicos, laboratoriais ou alterações eletrocardiográficas;
- Proporção de pacientes com cura definitiva.

#### 6.4. Definições

**Definição de cura precoce:** reepitelização total da úlcera em até 60 dias (D60).

**Definição de cura definitiva:** permanência da reepitelização total da úlcera em até 180 dias (D180).

**Definição de melhora:** reepitelização parcial superior a 60% e inferior a 100% da úlcera em até 60 dias (D60).

**Definição de falha terapêutica precoce:** qualquer comportamento diferente do descrito na definição de melhora até o sexagésimo dia de acompanhamento (D60). A necessidade de prolongar o tratamento além do período preconizado no protocolo pela ausência de sinais de melhora também será considerada como falha terapêutica precoce.

**Definição falha terapêutica:** ausência de melhora ou cura ou necessidade de interrupção precoce do tratamento, conforme descrito acima. Todos os pacientes que sejam perdidos durante o seguimento serão classificados como falha terapêutica e analisados na abordagem de intenção de tratar.

**Definição de recidiva:** ressurgimento de sintomas – após período de melhora ou desaparecimento dos mesmos, depois de finalizado o tratamento, que se apresente até o 180º dia de acompanhamento.

#### 7.0. Indicações terapêuticas no caso de falha ou recidiva:

Foi Preconizado o uso de Glucantime® (droga de primeira escolha) ou o uso de Pentamidina® (droga de segunda escolha, indicada para pacientes infectados com *Leishmania guyanensis*), três doses de 3-4mg/kg/dia, intramuscular, dependendo da forma clínica.

#### 7.1. Cronograma de avaliações

Foram realizados o exame clínico e a aplicação de um questionário pelas equipes nos seguintes dias de seguimento: D0, D15, D45, D60.

#### 7.2. Procedimentos

Todos os pacientes portadores de lesão, clinicamente compatível com leishmaniose

tegumentar americana, com menos de doze meses de evolução, foram submetidos a avaliação diagnóstica; esta consistiu na pesquisa de amastigotas pelo exame direto, escarificação e/ou biópsia da lesão, com o intuito de encaminhar material para realização de cultura e/ou isolamento em animal de experimentação e identificação da espécie.

Aos casos confirmados, que contemplem os critérios de inclusão, foi oferecida a possibilidade de participar do estudo, com apresentação, leitura e explicação do TCLE.

Com a aceitação em participar do projeto e assinatura do TCLE pelo paciente ou representante legal do mesmo, o participante seguiu o fluxograma de tratamento.

- **Pesquisa de amastigotas:** O exame direto para identificação de formas amastigotas do parasitofoi realizado por escarificação da borda interna da úlcera ou da lesão utilizando-se lâminas de bisturi estéril, escarificador ou punch. Com o material obtido foi feita uma distensão em lâminas de microscopia previamente limpas, desengorduradas e secas. Após a confecção do esfregaço, as lâminas foram coradas com Kit Panotico rápido.
- **Cultivo para *Leishmania*:** Os fragmentos cutâneos obtidos por biópsia da borda da lesão foram inoculados em meios de cultivo NNN – Neal, Novy e Nicolle (agar sangue modificado) e RPMI, entre 24 °C e 26 °C. Após o quinto dia já pode- se encontrar formas promastigotas do parasito, entretanto a cultura foi mantida até um mês sob observação antes da liberação do resultado negativo.
- **Coleta de sangue:** A coleta de sangue periférico por punção venosa (realizada por enfermeira da equipe) foi feita em tubos com sistema a vácuo, com solução EDTA como anticoagulante (BD Vacutainer® Juiz de Fora, MG, Brasil) dos pacientes e dos indivíduos sem infecção por leishmanias (controle negativo=CN) para realização dos Testes Imunológicos.

### 7.3. Manejo dos dados

Os dados de todas as fichas clínicas foram registrados pelo investigador principal ou alguém por ele designado, utilizando formulários específicos para a coleta de dados.

Os formulários foram preenchidos em 3 vias, uma via ficou no centro de atendimento ao paciente e as outras duas no laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas no INPA. Essas informações foram transferidas para um banco de dados em formato eletrônico. Foi checada a consistência entre os bancos obtidos por meio da dupla entrada de dados e as inconsistências eram corrigidas tendo como documento fonte o formulário em papel. Finalizada

esta etapa, 10% das fichas clínicas foram sorteadas para confrontar os dados com os dados eletrônicos para assegurar que a taxa de erro fosse menor que 1%.

#### **8.0. Dosagem de Citocinas por CBA (Cytometric Bead Array):**

Para dosagem de citocinas foram utilizadas amostras de soros da soroteca dos pacientes tratados por Glucantime e do grupo controle negativo. Foi realizada pela técnica de Citometria de Fluxo CBA (Cytometric Bead Array) com o Kit BDTM Human TH1/TH2/TH17 Cytokine (Cat. N° 560484, Lot.: 29132, marca BD® Biosciences, San Diego, CA, USA), seguindo as orientações descritas pelo fabricante. As citocinas quantificadas foram: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ .

O Kit BDTM CBA utiliza uma série de partículas (microesferas ou beads) de tamanho conhecido e com intensidade de fluorescência distinta para detectar simultaneamente através de uma superfície de captura as várias citocinas solúveis. Cada bead de captura esta conjugada com um anticorpo específico para cada citocina. A detecção das citocinas presentes na amostra é realizada através de anticorpos conjugados ao fluorocromo ficoeritrina (PE) que fornecem um sinal fluorescente em proporção a quantidade de citocina da amostra ligada a bead. Os complexos formados de bead de captura + citocina da amostra + anticorpo de detecção são quantificados através da Citometria de Fluxo. A intensidade da Fluorescência PE de cada complexo revela a concentração em pg/mL de cada citocina. Para a aquisição das amostras foi utilizado o Citômetro de Fluxo FACSCanto II (Becton, Dickinson and Company, San Jose, CA, USA) da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-HEMOAM.

Para o cálculo das concentrações em pg/mL e Intensidade Média de Fluorescência (MFI) de cada citocina, foi utilizado o software FCAP-Array™ (v3.0.1).

#### **9.0. Análises estatísticas**

As análises estatísticas dos níveis séricos das citocinas foram realizadas utilizando o software *GraphPad Prism 5.0* (San Diego, CA, EUA). Todos os dados foram considerados como apresentando uma distribuição não paramétrica, e, portanto, as análises comparativas entre os grupos foram realizadas por meio da análise de variância ANOVA seguido pelo teste de *Kruskal-Wallis* e *Mann Whitney*. A significância estatística foi definida em ambos os casos em  $p < 0,05$ . Para análise entre os grupos tratados por terapias diferentes, foi utilizado o software estatístico R 3.4.3. O nível de significância adotado para os testes foi de 5%.

Foi criada uma variável auxiliar chamada de “tratamento” para iniciarmos as comparações utilizando os seguintes testes: teste t de student, teste de Qui-Quadrado, teste de Mann-Whitney e teste exato de fisher. As variáveis quantitativas foram utilizados os dois primeiros testes e a variáveis qualitativas o último teste citado.

## **10.0 RESULTADOS**

O calor controlado através da aplicação de ondas de rádio foi utilizado no tratamento da leishmaniose cutânea (LC). Neste estudo, foi investigado se a terapia de calor local tem efeitos sistêmicos, medida pela modulação da produção de citocinas após a terapia térmica de lesões CL em comparação com o tratamento antimonial (Glucantime). Pacientes com LC foram distribuídos aleatoriamente neste estudo. O calor (50 ° C durante 30s) foi aplicado uma única vez. O grupo que recebeu terapia com Glucantime recebeu de 2 a 8 ciclos (20mg/kg), de acordo com a clínica de cada indivíduo, avaliada pelo médico.

### **10.1 Características clínicas dos pacientes**

As características dos dois grupos de pacientes encontram-se apresentadas nas Tabelas 03, 04 e 05. Com base nos resultados da tabela 05 abaixo, as variáveis: Idade, tamanho da lesão e Cultivo apresentam uma diferença significativa entre os dois grupo de tratamento.

Amastigota em biópsia, Local da lesão, N° de lesões e Característica da lesão não apresentam diferença significativa, portanto, há evidências, para que esses variáveis sejam iguais estatisticamente dentro dos dois tratamentos.

Verificou-se significância estatística ( $P=0,0180$ ) entre os grupos quanto às características das lesões. O diagnóstico parasitológico das biópsias foi confirmado em todos os 28 pacientes, da terapia de calor e no grupo Glucantime; sendo 23 em cultivo e 12 em animal de experimentação. Mas apenas o grupo Glucantime obteve positividade de todas as amostras em cultivo.

Na Tabela 03 estão descritas as características dos 22 pacientes tratados por termoterapia. Destes pacientes, apenas 12 concluíram as avaliações das lesões após tratamento.

**Tabela 03.** Características clínicas dos pacientes tratados com termoterapia.

Código da Amostra	Sexo	Idade (anos)	Tempo de Infecção (dias)	Intervalo de coleta (PT) (meses)	Nº de lesões	Tamanho da Lesão (cm)	Característica da lesão <sup>+</sup>
MHOM/BR/16/IM6164	F	54	15	*	01	1,0x1,0	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6165	M	38	30	02	08	0,6x0,5	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6166	M	54	90	02	01	1,4x1,1	Úlcera franca
MHOM/BR/16/IM6167	F	33	60	*	01	0,9x1,6	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6168	M	30	30	02	01	0,9x2,1	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6169	M	62	360	02	01	1,2x0,8	Nodular
MHOM/BR/16/IM6170	M	51	30	*	02	2,5x2,1	Lesões satélites
MHOM/BR/16/IM6171	M	20	60	*	01	1,1x1,0	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6172	F	32	90	*	01	1,5x1,5	Úlcera Franca
MHOM/BR/16/IM6173	M	18	60	*	04	2,5x1,5	Úlcera franca
MHOM/BR/16/IM6175	F	51	30	02	01	1,0x0,5	Úlcera franca
MHOM/BR/17/IM6176	M	25	30	02	01	1,5x1,6	Úlcera franca
MHOM/BR/17/IM6177	F	64	120	02	03	1,5x1,5	Úlcera franca
MHOM/BR/17/6184	M	39	60	*	01	1,0x1,2	Úlcera franca
MHOM/BR/17/IM6185	F	45	60	02	02	0,9x0,5	Lesões em placa
MHOM/BR/17/IM6186	F	18	180	*	01	1,1x0,8	Lesão em Placa
MHOM/BR/17/IM6187	M	18	60	02	01	1,8x1,5	Verrucosa
MHOM/BR/17/IM6188	M	51	60	02	01	1,5x1,3	Úlcera Franca
MHOM/BR/17/IM6189	M	25	60	02	02	1,5x0,9	Nodular
MHOM/BR/17/IM6191	M	62	90	*	01	1,8x 1,1	Lesões Satélites
MHOM/BR/17/IM6192	F	38	90	*	01	1,1x1,3	Úlcera Franca
MHOM/BR/17/IM6193	M	48	90	02	01	0,9x1,1	Úlcera Franca

Legenda: Pacientes / Amostras isoladas: M- mamífero; HOM- *Homo sapiens*; BR-país de origem (Brasil)/ano de isolamento/código original utilizado pelo INPA; Sexo: M- masculino; F- feminino. \*Evasão ou exclusão do protocolo. Pacientes que apresentaram mais de uma lesão foi incluído o valor da lesão de maior tamanho. <sup>+</sup>= b de acordo com NAIFF et al. (2009).

Os pacientes tratados por Glucantime® são descritos na tabela 04. Desse grupo de tratamento, todos os pacientes concluíram as avaliações.

**Tabela 04.** Dados dos pacientes que receberam Glucantime® como tratamento

Código da Amostra	Sexo	Idade (anos)	Tempo de Infecção (dias)	Intervalo de coleta (PT) (meses)	Nº de lesões	Tamanho da Lesão (cm)	Característica da lesão <sup>+</sup>
MHOM/BR/09/IM5595	M	21	30	04	01	1,2x1,5	Nodular
MHOM/BR/10/IM5637	F	31	60	03	01	1,7x1,8	em placa
MHOM/BR/10/IM5653	M	18	90	06	01	3,0x2,0	Úlcera franca
MHOM/BR/10/IM5690	F	58	60	10	01	1,7x1,8	Úlcera vegetante
MHOM/BR/10/IM5692	F	30	15	06	02	6,0x6,0	Verrucosa
MHOM/BR/10/IM5694	M	29	14	07	01	2,0x2,3	Nodular
MHOM/BR/11/IM5697	M	19	14	03	01	1,3x1,6	em placa
MHOM/BR/11/IM5749	M	38	30	03	01	1,7x1,4	Impetigoide
MHOM/BR/11/IM5772	M	26	120	04	01	1,0x0,8	em placa
MHOM/BR/11/IM5773	M	30	10	10	01	3,2x2,1	Úlcera franca
MHOM/BR/11/IM5775	M	24	21	07	04	0,8x5,0	Úlcera franca
MHOM/BR/11/IM5828	M	43	150	05	01	1,1x0,8	Úlcera franca
MHOM/BR/11/IM5869	M	24	60	03	08	6,0x6,0	Úlcera franca
MHOM/BR/11/IM5874	F	23	120	10	01	8,0x1,4	Úlcera franca
MHOM/BR/11/IM5875	M	49	30	04	01	1,1x0,7	em placa
MHOM/BR/11/IM5976	F	18	21	06	01	1,7x1,3	Verrucosa

Legenda: Isolados: M- mamífero; HOM- *Homo sapiens*; BR-país de origem (Brasil)/ano de isolamento/código original utilizado pelo INPA; Sexo: M- masculino; F- feminino. Pacientes que apresentaram mais de uma lesão foi incluído o valor da lesão de maior tamanho.<sup>+=</sup> De acordo com NAIFF et al. (2009).

Os resultados obtidos nesta seção são com o objetivo de comparação entre os tratamentos (Termoterapia e Glucantime®) são descritos na tabela 05.

**Tabela 05:** Comparativo entre tratamentos (Termoterapia e Glucantime®)

Variáveis	Tratamento		Total N = 28 (%)	P - valor
	Glucantime n = 16 (%)	Termoterapia n = 12 (%)		
<b>Idade (anos)</b>				< 0.001(T)
Média (Desvio Padrão)	30.1 (11.6)	47.3 (12.7)	37.5 (14.7)	
<b>Amastigota em biópsia</b>				1 (F)
ausente	1 (6.2)	0 (0)	1 (3.6)	
presente	15 (93.8)	12 (100)	27 (96.4)	
<b>Local da lesão</b>				0.694 (Q)
MI	8 (50)	4 (33.3)	12 (42.9)	
MS	5 (31.2)	6 (50)	11 (39.3)	
Tronco	3 (18.8)	2 (16.7)	5 (17.9)	
<b>Nº de lesões</b>				0.757 (Q)
1	13 (81.2)	8 (66.7)	21 (75)	
2	1 (6.2)	2 (16.7)	3 (10.7)	
3	0 (0)	1 (8.3)	1 (3.6)	
4	1 (6.2)	0 (0)	1 (3.6)	
8	1 (6.2)	1 (8.3)	2 (7.1)	
<b>Tamanho da Lesão(cm)</b>				0.01 (M)
Mediana(IQR)	3.1 (2,6.2)	1.1 (0.8,1.9)	2 (1,4.2)	
<b>Característica da lesão</b>				0.307 (Q)
Placa	4 (25)	1 (8.3)	5 (17.9)	
Impetigoide	1 (6.2)	0 (0)	1 (3.6)	
Lesões satélites	0 (0)	1 (8.3)	1 (3.6)	
Nodular	2 (12.5)	1 (8.3)	3 (10.7)	
Úlcera	6 (37.5)	9 (75)	15 (53.6)	
Úlcera vegetante	1 (6.2)	0 (0)	1 (3.6)	
Verrucosa	2 (12.5)	0 (0)	2 (7.1)	
<b>Cultivo</b>				0.008 (F)
negativo	0 (0)	5 (41.7)	5 (17.9)	
positivo	16 (100)	7 (58.3)	23 (82.1)	

Nota: IQR = Intervalo interquartilico ( 1º e 3º Quartil). P valor: T = Teste t de student para amostras independentes e variâncias iguais, Q = Teste de Qui-Quadrado, F = Teste exato de fisher, M = Teste de Mann-Whitney.

Estão apresentadas na figura 06 as lesões produzidas em focinho de hamster (*Mesocricetus auratus*), cerca de três (3) a seis (6) meses após inoculação de fragmentos macerados de biópsias de lesão dos pacientes. Esse procedimento foi realizado como auxiliar no diagnóstico e isolamento parasitário.

**Número de Registro**

**Características das lesões**

IM 6166



IM 6185



IM 6165



IM 6169



IM 6168



IM 6188



**Figura 06.** Lesões cutâneas em focinho de hamsters (*Mesocricetus auratus*) inoculados com macerado de biópsia de lesão dos pacientes do Grupo tratado por Termoterapia.

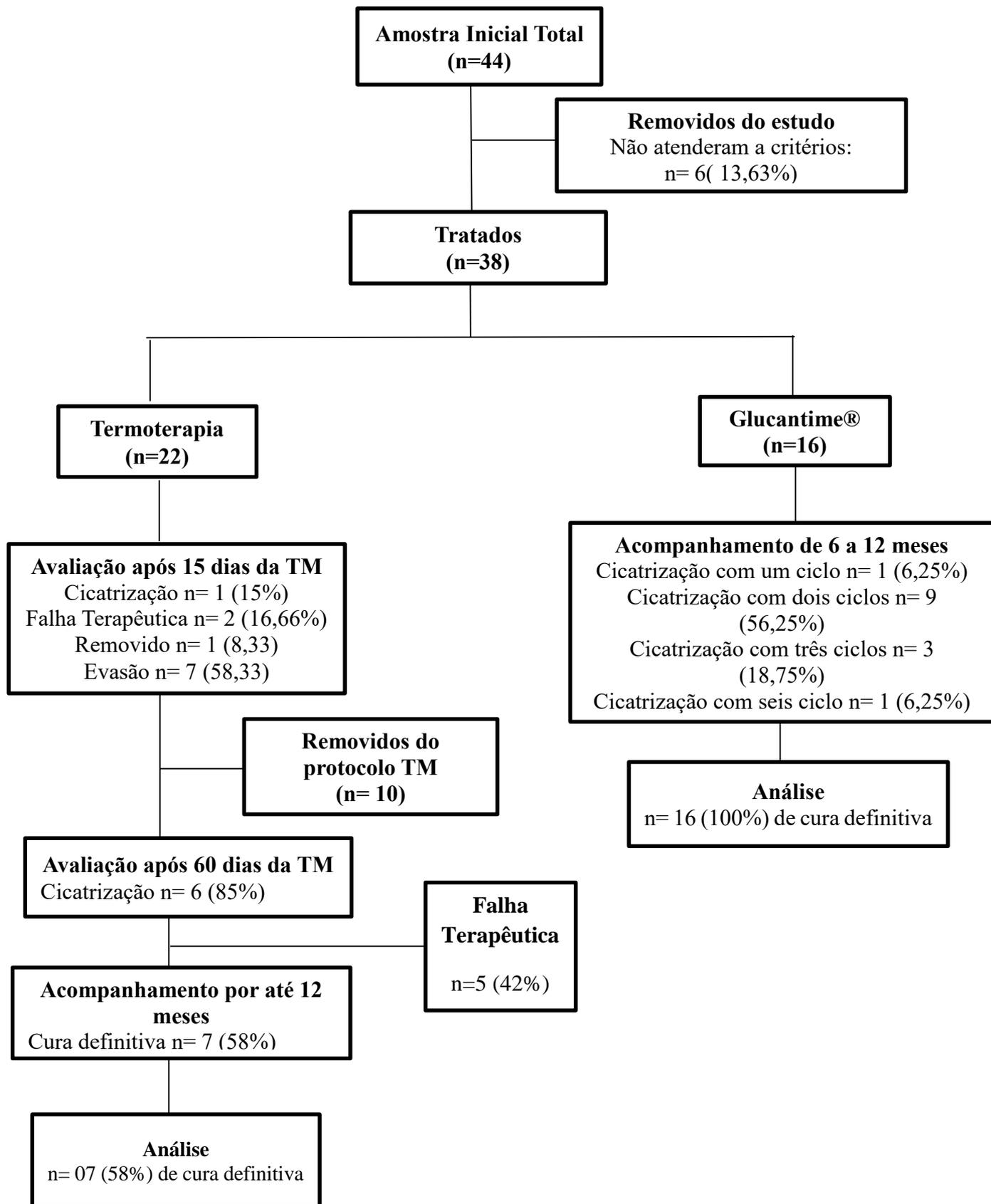
## 10.2. Resposta clínica geral:

Dos 22 pacientes incluídos no estudo para tratamento termoterápico, 12 (54%) concluíram suas avaliações clínicas seguindo o protocolo de tratamento proposto. Os outros foram removidos do estudo. A cura definitiva foi obtida em 58% dos casos (n=7) e cinco pacientes (42%) não responderam a termoterapia e precisaram ser encaminhados para tratamento com Glucantime. Dos indivíduos que seguiram o protocolo proposto, um paciente (15%) apresentou cicatrização da lesão com 15 dias após início do tratamento termoterápico e seis (85%) com 60 dias após seu início.

Os dez casos que não concluíram o tratamento termoterápico, foram removidos deste estudo, por razões diversas como o não retorno ao serviço ou a opção por iniciar outro tipo de tratamento. A fim de evitar as perdas desses casos, buscas ativas foram realizadas pela equipe da pesquisa, entretanto, 90% dos pacientes (n=9) não foram encontrados no endereço ou telefone disponibilizado a equipe. Foi possível contactar apenas um paciente e o mesmo foi excluído do estudo pois havia feito uso de brasa de carvão na lesão, acarretando assim exacerbação e infiltrado inflamatório, o que influenciou no protocolo de tratamento avaliado. Esta paciente foi direcionada ao tratamento por Glucantime®. Em pacientes com apenas uma das várias lesões tratadas com terapia de calor, as lesões não tratadas também curaram.

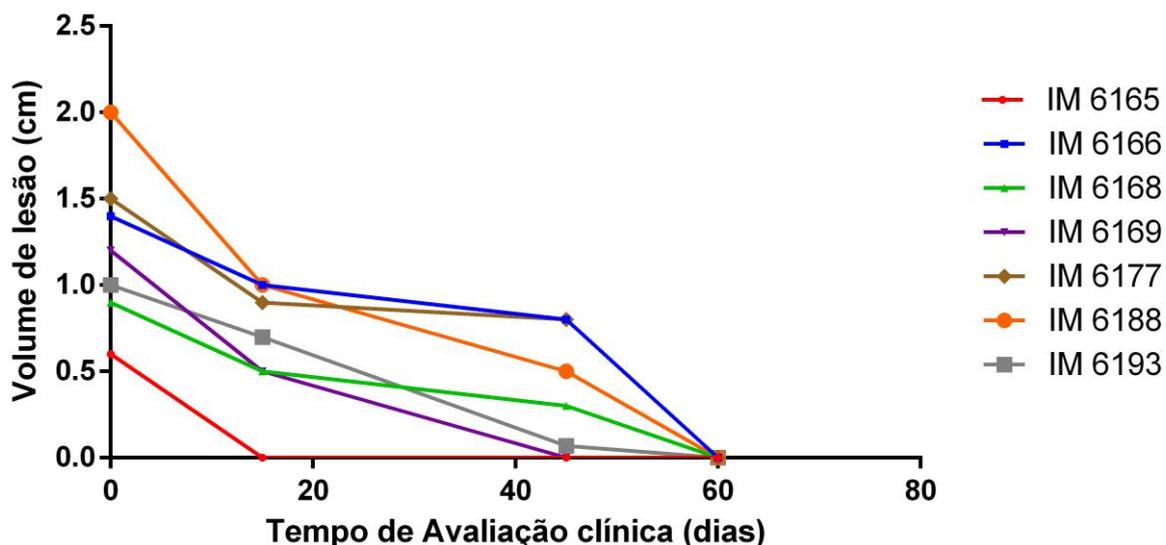
O grupo tratado com Glucantime® foi composto por 16 pacientes, destes, um indivíduo (6,25%) recebeu apenas um ciclo do tratamento (20 doses), nove pacientes (56,25%) fizeram uso de dois ciclos (40 ciclos), três (18,75) receberam três ciclos (60 doses) da terapia, um (6,25%) recebeu seis ciclos (120 doses) e dois (12,5) receberam 8 ciclos (180 doses). Todos os Pacientes tratados por Glucantime® (por via endovenosa) apresentaram cura definitiva das lesões.

Nas Figuras 07, 08 e 09 é demonstrado esquema de tratamento dos pacientes de ambos os grupos terapêuticos e a resposta clínica destes, frente às terapias discutidas. A análise de eficácia entre ambos os tratamentos mostrou que Glucantime® foi 42% mais eficaz do que a termoterapia.



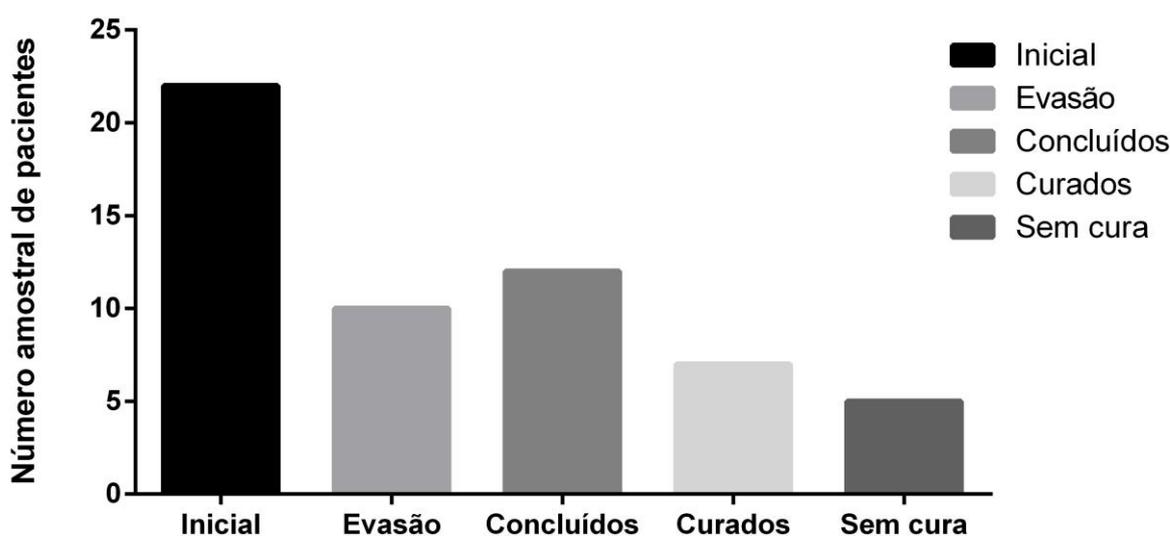
**Figura 07.** Fluxo de resultados obtidos da avaliação clínica em resposta ao tratamento por Termoterapia e Glucantime®.

Na figura 08 é demonstrado através de gráfico o diâmetro inicial das lesões e o tempo de avaliação clínica, assim como, os dias em que houveram cicatrização das lesões de cada paciente. Os pacientes são representados pelos códigos de registro interno.



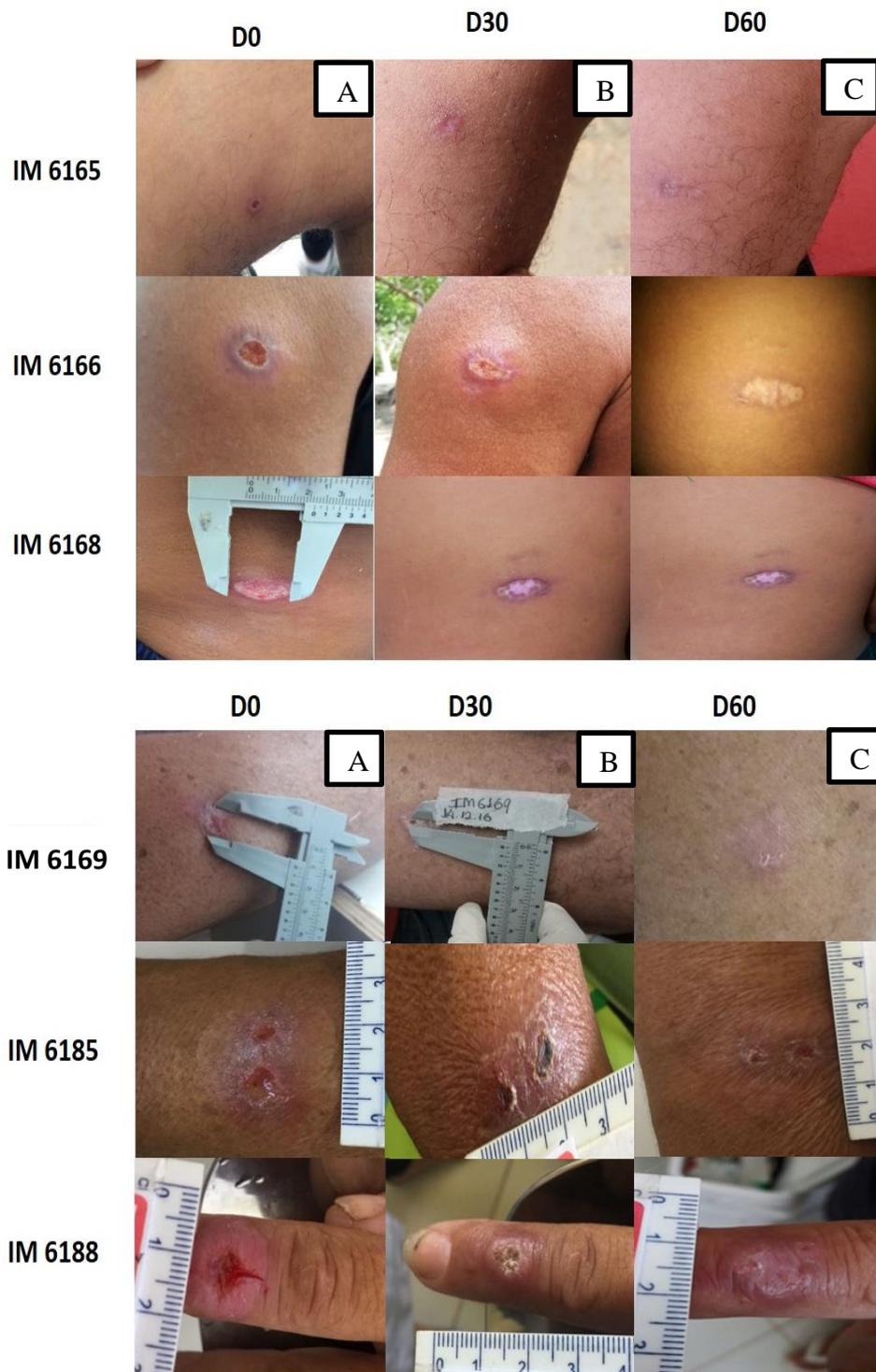
**Figura 08.** Pacientes com cicatrização da lesão em 15, 45 e 60 dias após tratamento Termoterápico. Representados com códigos de registros individuais por paciente (HOM/BR/16/IM6165; HOM/BR/16/IM6166; HOM/BR/16/IM6168; HOM/BR/16/IM6169; HOM/BR/17/IM6177; HOM/BR/17/IM6188; HOM/BR/17/IM6193).

No início do tratamento 22 pacientes receberam a terapia de calor (Figura 09) no decorrer dos dias de acompanhamento 10 pacientes evadiram-se. E os demais seguiram em avaliação clínica, conforme figura abaixo.



**Figura 09.** Representação dos pacientes ao início do tratamento e ao término do protocolo.

Na Figura 10 abaixo, são fotodocumentadas a evolução de reepitelização tecidual de pacientes tratados por Termoterapia.



**Figura 10.** Efeito sistêmico da terapia de calor na lesão da leishmaniose cutânea. Sequência de lesões de LC dos pacientes tratados (HOM/BR/16/IM6165; HOM/BR/16/IM6166; HOM/BR/16/IM6168; HOM/BR/16/IM6169; HOM/BR/17/IM6185; HOM/BR/17/IM6188). Fotos antes de iniciar o tratamento (A = dia 0), 30 (B) e 60 (C) dias após tratamento.

### **10.3. Resposta sistêmica das citocinas**

A produção de citocinas por células mononucleares de sangue periférico foi testada nos dias 0, 45 e 60 após o início do tratamento nos grupos tratados. No final de 60 dias, 58% das lesões foram curadas no grupo de terapia de calor e 100 % no grupo glucantime ( $P = 0,1226$ ).

A dosagem de citocinas do grupo tratado por termoterapia, não apresentou níveis detectáveis no plasma devido a problemas no transporte aéreo (atraso na entrega) para o grupo do Dr Jorge Clarêncio Souza Andrade, no Instituto Gonçalo Moniz- Fiocruz Bahia/LIB- Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Salvador – Bahia. Isto deve ter ocorrido devido a extrema elevação da temperatura e a desnaturação proteica presente no material biológico pela dificuldade no armazenamento. Entretanto, os testes serão refeitos a posteriori para a publicação. As amostras ficaram com os mesmos padrões de dosagem do padrão de 0,0pg. O "dot plot" representativo dos padrões foi adicionado e um de cada grupo teste, incluindo uma amostra controle que apresenta concentrações de IL10 e TNF (controle positivo). No Anexo 1 estão os valores individuais das dosagens de citocinas.

### **10.4. Concentração de citocinas sistêmicas nos pacientes tratados com Glucantime®**

#### **10.4.1. Citocinas Pró-inflamatórias e de Perfil TH1**

A concentração das citocinas pró-inflamatórias (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,0001$ ) entre indivíduos infectados e não infectados (Figura 13).

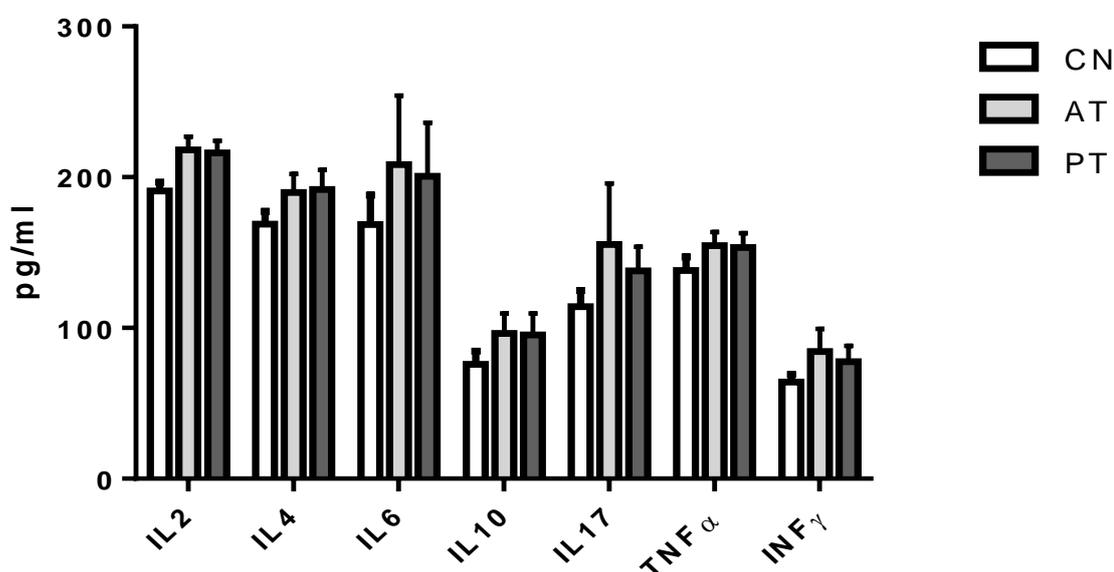
Na análise comparativa entre controles e amostras somente antes do tratamento com antimonial pentavalente (AT) as citocinas (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) apresentaram  $p < 0,0001$ , e maior concentração no grupo infectado foi observado quando comparado ao controle. Na análise estatística comparativa entre controles e amostras pós-tratamento, foi encontrado mesmo p valor ( $p < 0,0001$ ), entretanto, as concentrações nas amostras pós-tratamento tendem a diminuir, mas ainda são maiores quando comparadas aos controles. Não foram observadas diferença significativa nas concentrações séricas de IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  entre os pacientes antes ou pós-tratamento.

#### 10.4.2. Citocinas Regulatórias e de Perfil TH2 e TH17

A citocina regulatória IL-10 apresentou aumento significativo quando comparado aos controles ( $p < 0,0001$  Figura 13). Maior concentração de IL-10 também foi observada nas amostras pós-tratamento quando comparado à população controle.

Diferenças estatísticas significantes foram observadas para as citocinas (IL-4 e IL-6) [ $p < 0,0001$ ] na comparação com indivíduos não infectados. Na análise entre as amostras dos pacientes (AT x PT) não foi observado diferença no nível das citocinas nesses dois momentos.

A citocina IL-17 apresentou maior concentração sérica nas amostras dos pacientes em relação aos controles ( $p < 0,0001$ ). Verificou-se que antes do tratamento essa citocina está mais expressa do que no pós-tratamento e que ao término do uso do antimônio pentavalente a concentração de IL-17 apresenta predisposição a reduzir sua concentração (Figura 11).



**Figura 11.** Citocinas Dosadas dos Pacientes tratados por Glucantime® antes (AT) e após o tratamento (PT) (3 meses a 12 meses), e grupo controle negativo (CN).

## **11.0. Descrição de casos clínicos de pacientes tratados por Termoterapia (Série de Casos):**

### **11.1. ESTUDO DE CASOS**

#### **CASO 1 – (HOM/BR/2016/IM6164)**

**Anamnese:** N.N.B, 54 anos, gênero feminino, natural do Município de Rio Preto da Eva- AM, casada, múltipara, agricultora. Atendida no dia 03 de novembro de 2016 apresentando lesão cutânea no Membro Inferior Esquerdo (MIE) com ausência de cicatrização e tempo de evolução de 2 semanas. Paciente relatou ter feito uso de neomicina, mas suspendeu o uso por 15 dias para realizar exame direto para Leishmaniose, passando a fazer uso apenas de água e sabão para higienização da lesão. Sem histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações. Reside em área Rural, casa própria e com saneamento básico insatisfatório. Relata não ter visitado ramais vizinhos antes do aparecimento da lesão. Nega morbidades na família.

**Exame físico:** Paciente lúcida, orientada, responsiva, afebril, normotensa, hidratada, corada e com desjejum. **Cabeça:** crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, menor que três segundos, hidratada e lisa. Os olhos com aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observou desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Higiene bucal satisfatória, porém com uso de prótese dentária superior. Apresentava lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. **Pescoço:** forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume normal, consistência e mobilidade normais, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal, mamas simétricas e túrgidas. **AC:** RCR em 2 tempos BNF sem sopros. **AP:** MV (+) bilateralmente. **Abdome:** RHA (+) ativos, sem alterações. Funções Vesicointestinais preservadas. **MMSS:** sem alterações. **MMII:** presença de lesão ulcerada, sem características de infecção secundária, no **MIE**, medindo 1cm x 1cm, infecção secundária ausente.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para Leishmaniose cutânea no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Após 30 dias a paciente evoluiu com piora do quadro clínico por utilização de brasa de carvão no local da lesão. A ferida encontrava-se com sinais flogísticos, apresentando o dobro do tamanho da primeira avaliação e com secreção serosa. Para fins da pesquisa a paciente foi excluída do grupo de tratamento Termoterápico por ter utilizado método terapêutico empírico que influenciaria no resultado do protocolo. Esta foi encaminhada por médica do grupo para tratamento com Glucantime e acompanhada até a cura clínica.

## **CASO 2 - HOM/BR/2016/IM 6165)**

**Anamnese:** A.C.O, 38 anos, gênero masculino, natural do Município de Rio Preto da Eva- AM, casado, agricultor. Atendido no dia 03 de novembro de 2016 apresentando Lesões cutâneas nos Membros Inferiores (MMII) com ausência de cicatrização e tempo de evolução de 2 semanas. Sem histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações. Reside em área Rural, casa própria e com saneamento básico insatisfatório. Relata ter estado em área endêmica, Ramal do Cafezal, antes do aparecimento da lesão, para atividade de caça. Nega morbidades na família. Nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** paciente lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações, higiene bucal satisfatória, porém com uso de prótese dentária superior. **Pescoço:** de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume normal, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** Simétrico, com expansibilidade normal. **AC:** RCR em 2 tempos com BNF sem sopros. **AP:** MV (+) bilateralmente. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). MMSS: sem alterações. MMII: Presença de 8 lesões ulceradas, sendo no 5 lesões em MID e 3 lesões em MIE sem características de infecção secundária, medindo 0,6cmx0,5cm.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para Leishmaniose cutânea no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Após 15 da aplicação do TM o paciente retornou para a avaliação clínica e coleta de sangue. Pode-se observar que houve reepitelização tecidual das 8 lesões. A cura clínica definitiva foi confirmada após avaliação por até 12 meses conforme é preconizado pelo ministério da saúde, e não apresentou recidiva.

### **CASO 3 - HOM/BR/2016/IM 6166)**

**Anamnese:** A.C.L, 54 anos, gênero masculino, natural do Município de Rio Preto da Eva- AM, casado, agricultor. Atendido no dia 11 de novembro de 2016 apresentando Lesão cutânea no Membro Superior Direito (MSD) com tempo de evolução de 6 meses. Sem histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações. Reside em área Rural, Ramal do Baixo Rio, casa própria e com saneamento básico satisfatório. Relata não ter visitado ramais vizinhos antes do aparecimento da lesão. Nega morbididades na família. Nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, hipotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. **Pescoço:** forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **AC:** RCR em 2 tempos com BNF sem sopros. **AP:** MV (+) bilateralmente. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** presença de lesão cutânea, medindo 1,4cm x 1,1cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente compareceu nos dias orientados para avaliação clínica e coleta de sangue periférico. Ao 60º dia foi observado cicatrização da lesão. Para fins de confirmação de cura clínica este paciente foi acompanhado por até 12 meses e não apresentou recidiva.

#### **CASO 4 – (HOM/BR/2016/IM 6167)**

**Anamnese:** I.C.S.S, 33 anos, gênero feminino, natural do Município de Rio Preto da Eva- Amazonas, casada, agricultora. Atendida no dia 24 de novembro de 2016. Lesão cutânea em Membro Inferior direito(MID) que não cicatrizava, não sabendo tempo de evolução, relata o aparecimento da lesão em seu sítio, no Ramal do Baixo Rio. Nega histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcida, orientada, responsiva, afebril, normotensa, hidratada e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. **Pescoço:** de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **AC:** RCR em 2 tempos com BNF sem sopros. **AP:** MV (+) bilateralmente. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** lesão cutânea ulcerada, com características de infecção secundária, medindo 0,9cm x 1,6cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente evadiu-se após 30 dias da aplicação da Termoterapia.

#### **CASO 5 – (HOM/BR/2016/IMIM 6168)**

**Anamnese:** Paciente, V.P.S., 33 anos, gênero masculino, natural do Município de Rio Preto da Eva- Amazonas, solteiro, Garçon. Atendido no dia 24 de novembro de 2016. Lesão no

Quadrante Inferior Direito(QID) que não cicatrizava, tempo de evolução de 1 mês. Relata o aparecimento da lesão após ter ido a BR 174, no Alto Rio, onde passou 17 dias perdido pela mata. Tabagista, diz beber socialmente, nega histórico de doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. **Pescoço:** de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **AC:** RCR em 2 tempos com BNF sem sopros. **AP:** MV (+) bilateralmente. **Abdome:** RHA (+) hipoativos, Presença de lesão ulcerada, sem características de infecção secundária, no QSD, medindo 0,9cm x 2,1cm. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** sem alterações. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Avaliação:** Paciente não compareceu nas datas orientadas para avaliação. Foi encontrado através de busca ativa após 60 dias do tratamento, sendo observado cicatrização da lesão e foi acompanhado até 12 meses, sem apresentar recidiva. Paciente relatou que houve cicatrização de sua lesão após 30 dias de tratamento TM.

#### **CASO 6 – (HOM/BR/2016/IMIM 6169)**

**Anamnese:** Paciente, F.L.S., 62 anos, gênero masculino, natural do Manaus-Amazonas, casado, Técnico de Laboratório. Atendido no dia 30 de novembro de 2016. Paciente atendido no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA. Ferida em Membro Superior Direito(MSD) que não cicatrizava, tempo de evolução de 12 meses. Nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações.

Reside em área urbana, casa própria com saneamento básico satisfatório. Relata o aparecimento da lesão após ter ido ao Km 60, na base do exército para coleta.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. **Pescoço:** de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesão nodular, sem características de infecção secundária, medindo 1,2cm x 0,8cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Foi observado reepitelização tecidual após 60 dias do tratamento termoterápico.

#### **CASO 7 – (HOM/BR/2016/IMIM 6170)**

**Anamnese:** Paciente, M.O.A., 51 anos, sexo masculino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, casado, Caminhoneiro, Vaqueiro e Agricultor. Atendido no dia 01 de Dezembro de 2016. Lesões cutâneas em Ombro direito e omoplata direita que não cicatrizava, com tempo de evolução de 1 mês. Relata beber socialmente, nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações.

Reside em área rural, casa própria com saneamento básico satisfatório.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratada e alimentada. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos

possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesões de crosta aberta e lesão satélite, sem características de infecção secundária, no Ombro direito e omoplata direita, medindo 1,2cm x 2,1cm e 3,2cm x 1,6cm, respectivamente. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Falha terapêutica após 30 dias da TM, lesão com o dobro do tamanho inicial. O mesmo foi encaminhado ao tratamento por Glucantime® e acompanhado até sua cura clínica.

#### **CASO 8 – (HOM/BR/2016/IMIM 6171)**

**Anamnese:** Paciente, K.J.V.S., 20 anos, gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, solteiro, estudante. Atendido no dia 01 de Dezembro de 2016. Lesão cutânea em Membro Inferior Direito (MID) que não cicatrizava, tempo de evolução de 20 dias. Diz beber socialmente, nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações. Desconhece tempo de evolução da lesão.

**Exame físico:** Ao exame físico, paciente encontra-se lícido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato

regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** sem alterações. **MMII:** Presença de lesão com bordas elevadas, hiperemiada e com fibrinas no MID, medindo 1,1cm x 1,0cm.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo ao exame parasitológico direto.

**Evolução:** Falha terapêutica após 30 dias da TM, este foi encaminhado no tratamento convencional.

### **CASO 9 – (HOM/BR/2016/IM 6172)**

**Anamnese:** Paciente, F.C.S., 32 anos, gênero feminino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, solteira, do lar. Atendido no dia 17 de dezembro 2016. Lesão cutânea em MSD com tempo de evolução de 3 meses. Nega histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** Ao exame físico, paciente encontra-se lúcida, orientada, responsiva, afebril, normotensa, hidratada e com jejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** sem alterações. **MMII:** Presença de lesão com borda elevada e hiperemiada, sem características de infecção secundária, medindo 1,5x1,5 cm.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente evadiu-se após 15 dias do Tratamento Termoterápico.

### CASO 10 – (HOM/BR/2016/IM 6173)

**Anamnese:** Paciente, M.A.R., 18 anos, gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva-Amazonas, solteiro, estudante. Atendido no dia 10 de dezembro 2016. Lesões cutâneas em MSD e MSE com tempo de evolução de 2 meses. Nega histórico de etilismo, tabagismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** apresenta três lesões medindo 1,2 x 0,9 cm, 0,6 x 0,5 cm e 0,6 x 0,5 cm no MSD e lesão de tamanho 2,5 x 1,5 cm. No MSE. **MMII:** sem alterações. Diz ter feito uso de Sebo de carneiro, mas suspendeu seu uso para investigação parasitológica.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente evadiu-se após Tratamento Termoterápico.

### CASO 11 – (HOM/BR/2017/IM 6176)

**Anamnese:** Paciente, M.J.C.S., gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva-Amazonas, Ramal do Cafezal, solteiro, estudante. Atendido no dia 29 de Maio de 2017. Lesão cutânea única em MSE com tempo de evolução de 1 mês. Relata ter visitado banho em Novo Remanso antes do aparecimento da lesão. Nega histórico de etilismo, doenças crônicas e uso de medicações.

**Exame físico:** Ao exame físico, paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesão com bordas elevadas, e hiperemiada, sem características de infecção secundária, no MSE medindo 1,5 x 1,6 cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Evadiu-se após 60 dias de Tratamento Termoterápico.

#### **CASO 12 – (HOM/BR/2017/IM 6177)**

**Anamnese:** Paciente, R.D.O., gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, ZF 07, solteiro, estudante. Atendido no dia 05 de junho de 2017. Três Lesões ativas, localizadas em MID.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e

contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** sem alterações. **MMII:** Presença de 3 lesões ulceradas em MID, medindo 1,5 x 1,5 cm; 0,8 x 0,7 cm e 0,9 x 1,0 cm.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente compareceu a todas as datas orientadas para avaliação clínica e coleta de sangue. Ao 60° dia após tratamento por TM, foi observado cicatrização das lesões. Este foi acompanhado por 12 meses para confirmação de cura definitiva.

### **CASO 13 – (HOM/BR/2017/IM 6185)**

**Anamnese:** Paciente, M.R., gênero feminino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, Ramal Tueira, casada, agricultora. Atendido no dia 24 de julho de 2017. Duas Lesões ativas, localizadas em MSD.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcida, orientada, responsiva, afebril, hipertensa, hidratada e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** presença de lesões ulceradas, medindo 0,9 x 0,5 cm e 0,4x0,3 cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Paciente apresentou cicatrização da lesão após 60 dias de tratamento termoterápico. Sendo acompanhada por até 12 meses, sem recidiva.

#### **CASO 14 – (HOM/BR/2017/IM 6186)**

**Anamnese:** Paciente, I.S., gênero feminino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, Ramal Amazonas, casada, agricultora. Atendido no dia 10 de julho de 2017. Lesão única, em placa, eritematosa com superfície edematosa.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcida, orientada, responsiva, afebril, hipertensa, hidratada e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesão no MSD medindo 1,1 x 0,8cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Evadiu-se após 60 dias de TM.

#### **CASO 15 – (HOM/BR/2017/IM 6187)**

**Anamnese:** Paciente, J.O.M., gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, solteiro, estudante. Atendido no dia 17 de julho de 2017. Relata aparecimento de lesão e não lembra se esteve em área endêmica antes do aparecimento desta.

**Exame físico:** paciente encontra-se lícido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene

do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesão no MSD medindo 1,8x1,5cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Evadiu-se após 60 dias de TM.

#### **CASO 16 – (HOM/BR/2017/IM 6188)**

**Anamnese:** Paciente, A.S., gênero masculino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, solteiro, estudante. Atendido no dia 30 de julho de 2017. Relata aparecimento de lesão que não cicatrizava com evolução de 60 dias.

**Exame físico:** paciente encontra-se lícido, orientado, responsivo, afebril, normotenso, hidratado e com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax:** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções

Vesicointestinais (+). **MMSS:** Presença de lesão no dedo indicador do MSD medindo 1,5x1,3cm. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo para LC no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Houve reepitelização tecidual após 60 dias do tratamento TM.

### **CASO 17 – (HOM/BR/2017/IM 6189)**

**Anamnese:** Paciente, A.P., gênero feminino, natural de Rio Preto da Eva- Amazonas, ZF09, casada, agricultora. Atendido no dia 30 de julho de 2017. Relata aparecimento de lesão que não cicatrizava com evolução de 60 dias.

**Exame físico:** paciente encontra-se lúcida, orientada, responsiva, afebril, normotensa, hidratado com desjejum. **Cabeça:** Crânio normocefálico, com formato mesocéfalo, higiene do couro cabeludo satisfatória apresentando distribuição normal da quantidade de cabelos pelo couro cabeludo, face normocorada, simétrica de turgor normal, hidratada e lisa. Os olhos possuem aspecto simétrico, límpido e com brilho, pálpebras com oclusão completa, escleróticas brancas e limpas, pupilas isocóricas, redondas e fotorreagentes. As orelhas são de posições regulares, com tamanhos normais e simétricos, sem presença de secreções ou hiperemia. No segmento do nariz, não se observa desvios septais, sem presença de muco e sem deformidades. Apresenta lábios e mucosa oral hidratadas sem alterações. Pescoço de forma cilíndrica e contorno regular com mobilidade passiva. Traquéia de formato regular e em linha média, tireóide de volume, consistência e mobilidade normal, de superfície lisa. **Tórax** sem alteração anatômica de expansibilidade normal. **Abdome:** RHA (+) hipoativos. Funções Vesicointestinais (+). **MMSS:** Lesão no MSE medindo 1,5 x 0,7 cm com múltiplas lesões satélites. **MMII:** sem alterações.

**Diagnóstico e tratamento:** Resultado positivo no exame parasitológico direto.

**Evolução:** Evadiu-se após 60 dias de TM.

## 12.0. DISCUSSÃO

Conhecer os aspectos epidemiológicos e imunológicos das doenças negligenciadas, especialmente, aquelas que acometem as populações mais pobres residentes de local endêmico se faz necessário para que políticas públicas de saúde possam ser traduzidas para prevenção e controle, bem como, melhorias no atendimento, diagnóstico e tratamento de doenças. No caso da leishmaniose tegumentar americana, observa-se a ausência de esforços das indústrias farmacêuticas no desenvolvimento de novas drogas e tratamentos menos invasivos, que apresentem menor custo e menos toxicidade ao paciente.

A droga de primeira escolha preconizada pelo MS para o tratamento da LTA é o Glucantime®. Como opções terapêuticas de segunda linha, são disponibilizados nos serviços de saúde o isotionato de pentamidina (Pentacarinat®) e a anfotericina B. Entretanto, as despesas com o tratamento parenteral gera maiores custos, que vão de insumos hospitalares à gastos com internação (FERREIRA, 2011). Sendo importante destacar que a maioria desses casos ocorre em áreas de difícil acesso, nas zonas rurais, o que dificulta a aplicação parenteral da droga e o monitoramento de seus efeitos colaterais (BASANO et al., 2004). Uma vez que estes pacientes precisam ser assistidos quanto as funções cardíacas, renais, hepáticas e pancreáticas

As drogas atualmente preconizadas pelo MS são injetáveis, com alta toxicidade, baixa tolerabilidade e eficácia e de longa duração. A maioria dos pacientes que apresentam LC são provenientes de zonas rurais e possuem baixa renda. Dessa forma um esquema terapêutico que tivesse maior efetividade traria grande benefício para esses doentes, uma vez que, por ser um tratamento prolongado e com diversos efeitos adversos, muitos pacientes acabam desistindo do tratamento, o que favorece a progressão da doença (TALHARI et al., 2011).

Atualmente, encontrar novas drogas para o tratamento da LT que seja tão eficaz quanto os antimoniais, porém de fácil administração e de baixa toxicidade, vem sendo um grande desafio.

Estudos já veem sendo realizados com diversas modalidades de tratamentos alternativos, dentre eles, a terapia de calor, que vem se mostrando promissora em estudos já realizados por R. DAVID et. al., (2005), que afim de verificar a eficácia da Termoterapia, tiveram como resultado ao fim de 28 d, que 75% das lesões foram curadas com apenas uma aplicação. Também observaram que houve diminuição de IFN-gama, IL-5 e níveis de TNF-alfa, comparando o dia 0 com 28 dias.

Por conseguinte, LOBO et al. (2006) em estudo realizado com terapia de calor local, observaram que este tratamento em lesões de LC levou a respostas sistêmicas semelhantes às induzidas pela terapia por Glucantime®. Mais recentemente o grupo de ARASON et al (2015) chegou a observação semelhante a de R. DAVID (2005) e LOBO (2006). Onde verificaram que a terapia de calor para LC provoca uma resposta sistêmica de citocinas semelhante à da terapia antimonial (Glucantime®) e após o tratamento há uma redução nas citocinas IFN- $\gamma$ , IL10 e TNF.

O conhecimento dos mecanismos imunológicos contra esse agente infeccioso permitiria uma compreensão do curso clínico da doença. Sabe-se que o sistema imunológico atua em rede de cooperação, envolvendo mediadores moleculares e celulares. Neste cenário, tanto os mecanismos imunológicos quanto os mecanismos de evasão do parasito devem ser compreendidos, para que se esclareça os fatores de cura e progressão à doença, uma vez que, uma resposta imune exagerada e não modulada tem como consequência o dano tecidual. (CARVALHO et al.,2004).

O insucesso do tratamento é uma preocupação na leishmaniose tegumentar americana. E tal complicação é vista frequentemente em infecções por *Leishmania guyanensis*, em que os pacientes respondem diferentemente às medicações existentes (BORREAU et al., 2015).

O aumento dessas falhas terapêuticas aos antimoniais, vem sendo relatado principalmente na região Amazônica, constituindo um desafio a mais para a saúde pública. Em paralelo, não se dispõe na prática clínica de ferramentas laboratoriais que possam prever a falha terapêutica, o que faz com que a avaliação prognóstica destes pacientes seja baseada somente na clínica (SILVA, 2015). Sendo necessário para controle da LC, melhores modalidades de tratamento com evidência confiável de eficácia, segurança, tolerabilidade, menos efeitos adversos e de fácil aplicação.

### 13.0. CONCLUSÕES

- ✓ Foi constatada a eficácia do tratamento termoterápico na leishmaniose cutânea, mesmo com o pequeno número de pacientes que concluíram protocolo proposto, a cura clínica foi obtida e esse pode ser útil e sugerido no tratamento da doença. Ainda existe a necessidade de esclarecimentos quanto a resposta espécie específica ao tratamento em locais como o Estado do Amazonas, onde pelo menos ocorre a circulação de quatro espécies de Leishmania com forma clínica e resposta imune distinta.
- ✓ A taxa de eficácia do tratamento com Glucantime ® foi superior à da termoterapia para o tratamento da leishmaniose cutânea. Entretanto, os efeitos colaterais também são maiores.
- ✓ Foi necessário mais de um ciclo de Glucantime ® para 13 pacientes (93%) e mais de seis ciclos para 3 pacientes (17%) obterem cura das lesões, o que sugere certa resistência ao tratamento.
- ✓ Esses fatores, somados ao custo, problemas de adesão e abandono ao tratamento e à falta progressiva de resposta terapêutica, sugerem a termoterapia como um tratamento de primeira linha para a leishmaniose cutânea que poderia estar sendo utilizado isoladamente ou associado com outro tipo de tratamento, assim como, a adição de outros protocolos como a inclusão de mais de uma aplicação local.
- ✓ A termoterapia possui algumas contraindicações (portadores de marca passo, forma mucosa) mas é uma alternativa válida em pacientes com doença renal, hepática, auto imune e em pacientes que não podem receber terapia sistêmica, devendo ser considerada.
- ✓ Espera-se em estudos posteriores que esta modalidade de tratamento possa ser melhor investigada, afim de elucidar seu mecanismo de modulação do sistema imune e de novos protocolos de tratamento.

## 14.0. REFERÊNCIAS

AFONSO, L.; BORGES, V. M.; CRUZ, H.; RIBEIRO-GOMES, F. L.; DOSREIS, G. A.; DUTRA, A. N.; CLARENCIO, J.; DE OLIVEIRA, C. I.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M.; BRODSKYN, C. I. **Interactions with apoptotic but not with necrotic neutrophils increase parasite burden in human macrophages infected with *Leishmania amazonensis***. *J. Leukoc. Biol.* 84, 389–396, 2008.

ALVAR, J.; VÉLEZ, ID.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN, BOER.; **M.Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence**. WHO Leishmaniasis Control Team. *PLoSOne*. 7(5):e35671, 2012.

ARMIJOS, R. X., et al. **Comparison of the effectiveness of two topical paromomycin treatments versus meglumine antimoniate for New World cutaneous leishmaniasis**. *Acta Tropica*, Amsterdam, v. 91, p. 153-160, Jul. 2004

BERMAN, J. D.; NEVA, F. A. **Effect of temperature on multiplication of *Leishmania amastigotes* within human monocyte-derived macrophages in vitro**. *Am J Trop Med Hyg* 30: 318–321, 1981.

BODGAN, C. **Lishmaniasis in rheumatology, hematology and oncology epidemiological, immunological and clinical aspects and caveats**. *Ann. Rheum. Dis.* 71 (Suppl.2), i60-i66, 2012.

BOGDAN, C. et al. **Invasion, control and persistence of *Leishmania* parasites**. *Current Opinion in Immunology*, London, v. 8, p. 517-525, Aug. 1996.

BOGDAN, C., ROLLINGHOFF, M. **The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion**. *International Journal of Parasitology*, Oxford, v.28, n.1, p.121-134, Jan. 1998.

BOGDAN, C.; ROLLINGHOFF, M. **The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion**. *International Journal of Parasitology*, Oxford, v.28, n.1, p.121-134, Jan. 1998.

BOURREAU, E.; GINOUVES, M.; PRÉVOT, G.; HARTLEY, M. A.; GANGNEUX, J. P.; ROBERT-GANGNEUX, F.; DUFOUR, J.; SAINTE-MARIE, D.; BERTOLOTTI, A.; PRATLONG, F.; MARTIN, R.; SCHÜTZ, F.; COUPPIÉ, P.; FASEL, N.; RNET, C. **Presence of Leishmania RNA Virus 1 in Leishmania guyanensis Increases the Risk of First-Line Treatment Failure and Symptomatic Relapse.** J Infect Dis. 1;213(1):105-11. doi: 10.1093/infdis/jiv355. Epub 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017.

CARVALHO, E. M., et al. **Characterization of the immune response in subjects with self healing cutaneous leishmaniasis.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 53, n. 3, p. 273-277, Sep. 1995.

COUTINHO, S. G.; OLIVEIRA, M. P.; DA-CRUZ, A. M.; DE LUCA, P. M.; MENDONÇA, S. C. F.; BERTHO, A. L.; SOONG, L.; MCMAHONPRATT, D. **T-cell responsiveness of American cutaneous leishmaniasis patients to purified Leishmania pifanoi amastigote antigens and Leishmania braziliensis promastigote antigens: immunologic patterns associated with cure.** Exp Parasitol 84: 144-155, 1996.

CUPOLILLO, E.; MEDINA-ACOSTA, E.; NOYES, H.; MOMEN, H.; GRIMALDI, J. R. **A revised classification for Leishmania and Endotrypanum.** Parasitol Today 16:142-144, 2000.

DESJEUX, P. **Leishmaniasis.** Nat Rev Microbiol. Sep;2(9):692, 2004.

FIGUEIRA, L. P.; ZANOTTI, M.; PINHEIRO, F. G.; FRANCO, A. M. **Isoenzymatic characterization of human isolates of Leishmania sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from the municipalities of Rio Preto da Eva and Manaus, state of Amazonas.** Rev Soc Bras Med Trop 41: 512-514, 2008.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Textos de Epidemiologia para vigilância ambiental em saúde/coordenação. Brasília, 2002.

GUERRA, J. A.; PRESTES, S.R.; SILVEIRA, H.; COELHO, L. I.; GAMA, P.; MOURA, A.; AMATO, V.; BARBOSA, M. G.; FERREIRA, L. C. **Mucosal leishmaniasis caused by Leishmania (Viannia) braziliensis and Leishmania (Viannia) guyanensis in the Brazilian Amazon.** PLoS Negl Trop Dis 5: e980. 2011.

HEINZEL F. P.; SADICK, M. D.; HOLADAY, B. J.; COFFMAN, R. L.; LOCKSLEY, R. M. **Reciprocal expression of interferon gamma or interleukin 4 during the resolution or progression of murine Leishmaniasis. Evidence for expansion of distinct helper T cell subsets.** J. Exp. Med. 169: 59–72, 1989.

HEINZEL, F. P.; SADICK, M. D.; MUTHA, S. S.; LOCKSLEY, R. M. **Production of interferon  $\gamma$ , interleukin 2, interleukin 4, and interleukin 10 by CD4<sup>+</sup> lymphocytes in vivo during healing and progressive murine leishmaniasis.** Proc Natl Acad Sci USA 88: 7011-7015, 1991.

HOTEZ, P.; OTTESEN, E.; FENWICK.; & MOLYNEUX, D. **The Neglected Tropical Diseases: The Ancient Afflictions of Stigma and Poverty and the Prospects for their Control and Elimination.** In Pollard, A. J. & Finn, A. (Ed.) Hot Tropics in Infection and Immunity in Children III. New York: Springer. US. 22. 2006

JONES, T. C.; JOHNSON, JR. W. D.; BARRETTO, A. C.; LAGO, E.; BADARO, R.; CERF, B. **Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis*.** J Infect Dis. v. 156, pp. 73-83, 1987.

JUNAID, A.J. **Treatment of cutaneous leishmaniasis with infrared heat.** Int. J. Dermatol. 25, 470—472. 1986.

KILLICK-KENDRICK, R.; MOLYNEUX, D. H. **Transmission of leishmaniasis by the bite of phlebotomine sandflies: possible mechanisms.** Trans R Soc Trop Med Hyg.;75(1):152-4, 1981.

LAINSON, R.; RYAN, L.; SHAW, JJ. **Infective stages of *Leishmania* in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission.** Mem Inst Oswaldo Cruz. Jul-Sep;82(3):421-4, 1987.

LASKAY, T.; VAN ZANDBERGEN, G.; SOLBACH, W. **Neutrophil granulocytes as host cells and transport vehicles for intracellular pathogens: apoptosis as infection-promoting factor.** Immunobiology. 213:183–191, 2008.

LINDOSO, J. A.; LINDOSO, A. A. **Neglected tropical diseases in Brazil.** Rev Inst Med Trop. Sao Paulo. Sep-Oct;51(5):247-53, 2009.

MARSDEN, P. D. **Clinical presentations of *Leishmania braziliensis braziliensis*.** Parasitol Today 1: 129-133, 1985.

- MARSDEN, P. D. **Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911)**. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 80(6):859-76, 1986.
- MARSDEN, P. D.; JONES TC. **Clinical manifestations, diagnosis and treatment of leishmaniasis**. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, 1985.
- MINODIER, P.; PAROLA, P. **Cutaneous leishmaniasis treatment**. *Travel Med Infect Dis.* May;5(3):150-8, 2007
- MOSMANN T. R.; COFFMAN R. L. **TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties**. *Annu. Rev. Immunol.* 7 145–173, 1989.
- MOSMANN, T. R.; CHERWINSKI, H.; BOND, M.; GIEDLIN, M. A.; COFFMAN, R. L. **Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins**. *J. Immunol.* 136, 2348–2357, 1986.
- MOSSER, D.M.; EDELSON, P. J. **Activation of the alternative complement pathway by Leishmania promastigotes: parasite lysis and attachment to macrophages**. *J Immunol*, 132(3):1501-5, 1986.
- NACHER, M.; CARME, B.; SAINTE MARIE, D.; COUPPIÉ, P.; CLYTI, E.; GUIBERT, P.; et al. **Influence of clinical presentation on the efficacy of a short course of pentamidine in the treatment of cutaneous leishmaniasis in French Guiana**. *Ann Trop Med Parasitol.* 95:331-6, 2001;
- NAIFF, R. D.; TALHARI, S.; BARRETT, T. V. **Isolation of Leishmania guyanensis from lesions of the nasal mucosa**. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 83:529–530, 1999.
- OUELLETTE, M. **Biochemical and molecular mechanisms of drug resistance in parasites**. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 6, n.11, p. 874- 882, Nov. 2001.
- PAES, M. G.; BARROS, M. L. B.; FERREIRA, L. C. L.; TALHARI, S. **Leishmaniose tegumentar americana**. In: Tonelli E, Freire LMS, editores. *Doenças infecciosas na infância e adolescência*. 2 ed. Rio de Janeiro: Medsi; p.1251-70.2000.
- PRATES, D.; ARAÚJO-SANTOS, T.; LUZ, N. F.; ANDRADE, B. B.; FRANÇA-COSTA, J.; AFONSO, L.; CLARÊNCIO, J.; MIRANDA, J. C.; BOZZA, P. T.; DOSREIS, G. A.; BRODSKYN, C.; BARRAL-NETTO, M.; BORGES, V. M.; BARRAL, A. **Lutzomyia longipalpis saliva drives apoptosis and enhances parasite burden in neutrophils**. *J Leukoc Biol. Sep*; 90(3):575-82, 2011.

REIS, L. C., et al. **Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana.** Revista de Patologia Tropical, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 103-115, Maio/Ago. 2006.

REITHINGER, R., J. DUJARDIN, et al. "**Cutaneous Leishmaniasis.**" The lancet Infection Diseases 7: 581-596, 2007.

RODRIGUES, A. M., et al. **Fatores associados ao insucesso do tratamento da leishmaniose cutânea com antimoniato de melgumina.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 139-145, Mar/Apr. 2006.

ROUSSEL, M.; NACHER, M.; FRÉMONT, G.; ROTUREAU, B.; CLYTI, E.; SAINTE-MARIE, D.; CARME, B.; PRADINAUD, R.; COUPPIÉ, P. **Comparison between one and two injections of pentamidine isethionate, at 7 mg/kg in each injection, in the treatment of cutaneous leishmaniasis in French Guiana.** Ann Trop Med Parasitol 100(4):307-14. 2006.

SACKS, D. L.; LAL, S. L.; SHRIVASTAVA, S. N, BLACKWELL, J. & NEVA, F. A. **An Analysis of T cell responsiveness in Indian Kala-azar.** J. Immunol. 138: 908-913, 1987.

SALAZO-SUAZO, N., et al. **Treatment of two patients with diffuse cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania mexicana modifies the immunohistological profile but not the disease outcome.** Tropical medicine and International Health, Oxford, v. 4, n. 12, p. 801-811, 1999.

SILVEIRA, F.T.; ISHIKAWA, E. A.; DE SOUZA, A. A.; LAINSON, R. **An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by Leishmania (Viannia) lindenbergi.** . sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. Parasit.; 9(1):43-50, 2002.

SILVEIRA, FT.; LAINSON, R.; CASTRO, GOMES. CM.; LAURENTI, MD.; CORBETT, CEP. **Immunopathogenic competences of Leishmania (V.) braziliensis and L. (L.) amazonensis in American cutaneous leishmaniasis.** Parasite Immunol 31: 423-431, 2009.

SILVEIRA, FT.; LAINSON, R.; CORBETT, CE. **Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil: a review.** Mem Inst Oswaldo Cruz. 99: 239-251, 2004.

SILVEIRA, M. R.; BRENER, Z. **Nota preliminar sôbre a piretototerapia na leishmaniose tegumentar americana.** Hospital (Rio J), Apr;37(4):637-641, 1950.

VELASCO-CASTREJÓN, O.; WALTON, B. C.; RIVAS-SÁNCHEZ, B.; GARCÍA, M. F.; LÁZARO, G. J.; HOBART, O.; ROLDAN, S.; FLORIANI-VERDUGO, J.; MUNGUÍA-SALDANA, A.; BERZALUCE, R. **Treatment of cutaneous leishmaniasis with localized current field (radio frequency) in Tabasco, Mexico.** *Am J Trop Med Hyg* 57: 309-312, 1997.

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

## ANEXO I

Resultado da dosagem de citocinas pelo kit CBA de pacientes tratados pela Termoterapia

	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-10</b>	<b>TNF</b>	<b>IFN</b>
<b>Limite de detecção (pg/mL)</b>	2,6	4,9	2,4	4,5	3,8	3,7
<b>Antes do trat. AT</b>						
IM6165	2,3	3,7	0,8	2,2	3,8	1,3
IM6166	2,4	4,1	2,3	4,2	2,3	2,1
IM6168	2,4	2,4	3,4	3,1	3,4	1,3
IM6169	2,5	3,5	3,4	2,3	2,4	2,3
IM6170	0,9	2,4	2,3	3,4	3,2	3,2
IM6171	2,3	3,4	0,9	2,3	2,3	3,2
IM6175	1,8	2,3	0,4	0,8	3,4	1,3
IM6177	1,8	4,1	0,5	0,4	2,2	1,4
IM6185	1,8	4	1,9	3,5	1,2	2,1
IM6187	0,8	2,4	1,3	3,1	2,3	2,3
IM6188	2,6	2,4	2,3	2,1	2,3	1,6
IM6193	2,7	1,3	2,3	0,9	4,2	2,4
<b>Durante trat. DT</b>						
IM6165	1,2	3,6	2,1	3,2	3,2	3,1
IM6166	2,3	4,2	2,4	2,3	2,1	2,9
IM6168	2,3	3,4	2,3	2,4	0,9	2,3
IM6169	1,2	2,3	0,5	2,3	0,2	2,1
IM6170	2,3	2,5	0,7	2,4	2,1	3,1
IM6171	2,4	3,4	2,4	0,5	2,4	2,3
IM6175	2,4	4,2	1,4	2,1	2,3	2,1
IM6177	1,8	2,3	2,3	2,5	2,4	0,9

IM6185	0,9	4,3	2,4	1,9	2,1	0,3
IM6187	0,8	2,3	2,3	1,3	0,6	0,4
IM6188	3,1	2,3	2,5	1,3	0,6	0,2
IM6193	1,3	3,1	2,4	2,3	1,2	2,3

**Pós trat. PT**

IM6165	1,2	2,1	0,9	2,4	2,4	1,2
IM6166	2,3	2,3	0,4	2,6	3,2	2,3
IM6188	2,3	2,3	0,4	2,1	2,5	2,3
IM6169	2,4	1,3	0,3	0,9	2,1	2,3
IM6170	2,1	1,2	2,4	0,4	2,3	2,4
IM6171	1,2	1,3	2,5	0,5	2,4	2,3
IM6175	0,9	1,6	2,4	0,3	1,2	1,2
IM6177	0,3	1,8	0,5	0,2	1,4	2,3
IM6185	2,1	0,9	0,4	2,4	1,3	2,3
IM6187	2,5	0,8	2,4	2,1	1,3	2,1
IM6188	2,3	0,4	2,4	2,3	2,3	2,1
IM6193	0,8	2,3	2,5	2,4	2,1	0,2

**APÊNDICE I**  
**Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos**  
**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (ANEXO I)

Nós os pesquisadores Antonia Maria Ramos Franco e Erika Oliveira da Silva, vimos nos apresentar ao(s) senhor(es), como responsáveis pelo desenvolvimento de um projeto de pesquisa que temo como título **“Avaliação da resposta imune de pacientes com *Leishmania* spp tratados com protocolo termoterápico no estado do Amazonas, BR”** e pedir a sua participação no referido projeto. Vamos lhe apresentar a pesquisa.

Esta pesquisa se faz necessária em função da necessidade de se conhecer mais a doença e da adoção de um tratamento indolor, sem efeitos colaterais e adversos, sem custo e em apenas uma aplicação. Objetivando-se avaliar o papel de citocinas regulatórias e inflamatórias na modulação da resposta imune a infecção por *Leishmania sp.* em pacientes tratados com termoterapia.

Serão realizados exames de laboratório a partir da ferida e do sangue para descobrir se tem a doença de **Leishmaniose Tegumentar conhecida como “Ferida brava”** e será feito coleta de sangue que irá ajudar na realização das atividades do projeto. Se o Senhor (a) concordar participar do projeto seu sangue será utilizado como sangue de pessoa **sem a doença Leishmaniose**, ou seja, fará parte do **grupo controle**, e servirá para compararmos com o sangue de outras pessoas que tem a doença. O que não for usado será guardado na coleção de soros do Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas da coordenação de pesquisa em Ciências da Saúde. Será feita coleta com seringa de 5ml de sangue de uma veia de seu braço, por um(a) profissional treinado (a), podendo proporcionar dor no ato da coleta e uma mancha roxa que desaparecerá em poucos dias. Porém todos os cuidados para redução desse risco serão tomados. A vantagem de sua participação é apenas de caráter científico ao auxiliar este estudo que poderá proporcionar um tratamento menos agressivo para Leishmaniose e através do sangue poderemos conhecer quais células estão envolvidas no processo de cura da infecção.

Caso o Sr(a) autorize, o material que sobrar será armazenado por 5 anos podendo ser utilizado em outros projetos de pesquisa. O senhor será contactado para assinar novo TCLE

Sua participação é voluntária e ao concordar em participar o senhor não terá nenhuma despesa, assim como também nenhuma remuneração. Havendo necessidade de seu comparecimento para nova coleta no INPA ou sede do laboratório de referência, o pesquisador se responsabilizará pelo seu transporte e sua alimentação (caso necessário), bem como de seu acompanhante. Além disso sua participação neste projeto será de grande importância para o avanço a melhoria no tratamento da doença.

Mesmo após sua autorização, o sr(a) terá o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, independente do motivo e sem qualquer prejuízo.

Os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre. Se quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, faça contato com a pesquisadora pelo telefone (92) 98155-7825 ou pelo email [ericcaoliveiras@gmail.com](mailto:ericcaoliveiras@gmail.com).

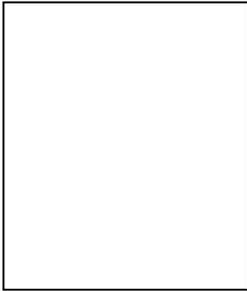
O Sr. participante da pesquisa também pode entrar em contato, caso tenha interesse como o Comitê de Ética do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, situado na sede Av. André Araújo, 2936, Prédio da Diretoria, térreo, Sala-CEP, telefone (92)3643-3287 ou pelo e-mail: [cep.inpa@inpa.gov.br](mailto:cep.inpa@inpa.gov.br).

Consentimento Após-Informação

Eu, \_\_\_\_\_, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

ou

  
Impressão do dedo polegar

\_\_\_\_-\_\_\_\_-\_\_\_\_  
Data

Caso não saiba assinar

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora Responsável

\_\_\_\_-\_\_\_\_-\_\_\_\_  
Data

# Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos

## INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (ANEXO II)

Nós os pesquisadores Antonia Maria Ramos Franco e Erika Oliveira da Silva, vimos nos apresentar ao(s) senhor(es), como responsáveis pelo desenvolvimento de um projeto de pesquisa que temo como título **“Avaliação da resposta imune de pacientes com *Leishmania sp* tratados com protocolo termoterápico no estado do Amazonas, BR”** e pedir a sua participação no referido projeto. Vamos lhe apresentar a pesquisa.

Esta pesquisa se faz necessária em função da necessidade de se conhecer mais a doença e da adoção de um tratamento indolor, sem efeitos colaterais e adversos, sem custo e em apenas uma aplicação. Objetivando-se avaliar o papel de citocinas regulatórias e inflamatórias na modulação da resposta imune a infecção por *Leishmania sp.* em pacientes tratados com termoterapia.

Serão realizados exames de laboratório a partir da ferida e do sangue para descobrir se tem a doença de **Leishmaniose Tegumentar conhecida como “Ferida brava”**. Se o Senhor (a) concordar participar do projeto preencherá uma ficha de investigação sobre seus dados e sobre o aparecimento da ferida. O Sr(a) tem o direito de recusar-se a responder as perguntas que ocasionem constrangimento de qualquer natureza. Também será coletado por uma seringa de 5ml sangue de uma veia de seu braço, por um(a) profissional treinado (a), podendo proporcionar dor no ato da coleta e uma mancha roxa que desaparecerá em poucos dias. Porém todos os cuidados para redução desse risco serão tomados. A coleta será realizada novamente daqui a 15 dias e após o tratamento. A vantagem de sua participação é apenas de caráter científico, ao auxiliar este estudo que poderá proporcionar um tratamento menos agressivo para Leishmaniose e através do sangue poderemos conhecer quais células estão envolvidas no processo de cura da infecção. Dessa forma o senhor (a) fará parte do grupo experimental.

Os riscos decorrentes da participação do paciente na pesquisa pode ser algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço e no momento da escarificação da borda da lesão. A biópsia da pele será feita por médico otorrinolaringologista, e o indivíduo também poderá sentir algum desconforto quando receber uma picada para a aplicação do anestésico local, que tem como intuito fazer um procedimento indolor. Todo procedimento que envolve coleta de material biológico apresenta por si só riscos em relação ao bem estar do participante, como dor, mal estar e desconforto. A fim de diminuir esses riscos, o procedimento será realizado em ambiente adequado, climatizado e que proporcione melhor bem estar aos envolvidos na pesquisa.

Antes do início do procedimento será verificado se está em condições adequadas para realizar as coletas, se está bem alimentado, se dormiu bem e sente-se confortável. Será realizado assepsia no local da punção, a fim de eliminar possíveis contaminações, será coletado dois (2) tubos contendo 4 ml de sangue periférico, a coleta será realizada por punção venosa, utilizando seringa ou tubos de coleta à vácuo. Para diminuir a dor e o desconforto no momento da escarificação da borda da lesão e coleta da biópsia, será aplicado pelo médico da equipe um anestésico no local e anticoagulante para evitar sangramento, o procedimento será realizado no momento em que o participante perder a sensibilidade no local da lesão ativa. Se durante realização de qualquer um dos procedimentos, o senhor sentir-se mal, apresente tontura ou queixe qualquer dor, a coleta de amostras será interrompida e o atendimento necessário pela equipe de pesquisadores será oferecido ( aferição de pressão arterial,

aplicação de medicamento caso haja necessidade pelo médico da equipe, e todas as medidas a fim de resguardar a saúde e bem estar do participante).

Caso o Sr(a) autorize, o material que sobrar será armazenado por 5 anos podendo ser utilizado em outros projetos de pesquisa. O senhor será contactado para assinar novo TCLE.

Sua lesão será tratada através do aparelho de termoterapia, este que será utilizado por Médico(a) especializado, será aplicado por 30 segundos ao redor da ferida uma única vez e será acompanhado a melhora ou não da lesão em até 30 dias. Caso este tratamento não cure sua ferida, o médico prescreverá o tratamento medicamentoso por via Intramuscular. Este aparelho tem aprovação do Ministério da Saúde e tem sido utilizado com sucesso no tratamento contra Leishmaniose Cutânea. Alta exposição pode gerar queimaduras, contudo todos os cuidados serão tomados pelo profissional, com aplicação de temperatura e tempos adequados. Contudo, o Thermomed é projetado com características de auto-teste que pára automaticamente o tratamento se qualquer condição de falha for detectada.

Para receber o tratamento térmico o senhor(a) não pode estar utilizando correntes, anéis, brincos e demais acessórios. Assim como não possuir marcapasso, dispositivos implantáveis e estar grávida, caso seja do sexo feminino.

Sua participação é voluntária e ao concordar em participar o senhor não terá nenhuma despesa, assim como também nenhuma remuneração. Havendo necessidade de seu comparecimento para nova coleta no INPA ou sede do laboratório de referência, o pesquisador se responsabilizará pelo seu transporte e sua alimentação (caso necessário), bem como de seu acompanhante. Além disso sua participação neste projeto será de grande importância para o avanço a melhoria no tratamento da doença.

Mesmo após sua autorização, o sr(a) terá o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, independente do motivo e sem qualquer prejuízo.

Os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre. Se quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, faça contato com a pesquisadora pelo telefone (92) 98155-7825 ou pelo email [ericcaoliveiras@gmail.com](mailto:ericcaoliveiras@gmail.com).

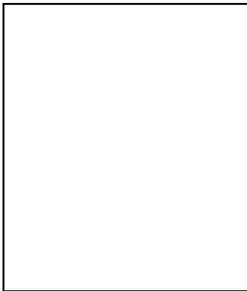
O Sr. participante da pesquisa também pode entrar em contato, caso tenha interesse como o Comitê de Ética do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, situado na sede Av. André Araújo, 2936, Prédio da Diretoria, térreo, Sala-CEP, telefone (92)3643-3287 ou pelo e-mail: [cep.inpa@inpa.gov.br](mailto:cep.inpa@inpa.gov.br).

## Consentimento Após-Informação

Eu, \_\_\_\_\_, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

ou



\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_  
Data

Impressão do dedo polegar

Caso não saiba assinar

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora Responsável

\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_  
Data

# Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos

## INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO( ANEXO III)

Nós os pesquisadores Antonia Maria Ramos Franco e Erika Oliveira da Silva, vimos nos apresentar ao(s) senhor(es), como responsáveis pelo desenvolvimento de um projeto de pesquisa que temo como título **“Avaliação da resposta imune de pacientes com *Leishmania sp* tratados com protocolo termoterápico no estado do Amazonas, BR”** e pedir a sua participação no referido projeto. Vamos lhe apresentar a pesquisa.

Esta pesquisa se faz necessária em função da necessidade de se conhecer mais a doença e da adoção de um tratamento indolor, sem efeitos colaterais e adversos, sem custo e em apenas uma aplicação. Objetivando-se avaliar o papel de citocinas regulatórias e inflamatórias na modulação da resposta imune a infecção por *Leishmania sp.* em pacientes tratados com termoterapia.

Serão realizados exames de laboratório a partir da ferida e do sangue para descobrir se tem a doença de **Leishmaniose Tegumentar conhecida como “Ferida brava”**. Se o Senhor (a) concordar participar do projeto preencherá uma ficha de investigação sobre seus dados e sobre o aparecimento da ferida e fará parte do grupo tratado com a medicação convencional, o Glucantime. O Sr(a) tem o direito de recusar-se a responder as perguntas que ocasionem constrangimento de qualquer natureza Também será coletado por uma seringa de 5ml sangue de uma veia de seu braço, por um(a) profissional treinado (a), podendo proporcionar dor no ato da coleta e uma mancha roxa que desaparecerá em poucos dias. Porém todos os cuidados para redução desse risco serão tomados. A coleta poderá ser realizada novamente daqui 3 a 10 meses após o tratamento. A vantagem de sua participação é apenas de caráter científico, ao auxiliar este estudo que poderá proporcionar um tratamento menos agressivo para Leishmaniose e através do sangue poderemos conhecer quais células estão envolvidas no processo de cura da infecção.

Os riscos decorrentes da participação do paciente na pesquisa pode ser algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço e no momento da escarificação da borda da lesão. A biópsia da pele será feita por médico especialista, e o indivíduo também poderá sentir algum desconforto quando receber uma picada para a aplicação do anestésico local, que tem como intuito fazer um procedimento indolor. Todo procedimento que envolve coleta de material biológico apresenta por si só riscos em relação ao bem estar do participante, como dor, mal estar e desconforto. A fim de diminuir esses riscos, o procedimento será realizado em ambiente adequado, climatizado e que proporcione melhor bem estar aos envolvidos na pesquisa. Antes do início do procedimento será verificado se o paciente está em condições adequadas para realizar as coletas, se este bem alimentado, se dormiu bem e sente-se confortável.

Será realizado assepsia no local da punção, a fim de eliminar a contaminação possíveis contaminações, será coletado dois (2) tubos contendo 4 ml de sangue periférico, a coleta será realizada por punção venosa, utilizando seringa ou tubos de coleta à vácuo. Para diminuir a dor e o desconforto no momento da escarificação da borda da lesão e coleta da biópsia, será aplicado pelo médico da equipe um anestésico no local e o procedimento será realizado no momento em que o participante perder a sensibilidade no local da lesão ativa. Se durante realização

de qualquer um dos procedimentos, o participante sintá mal, apresente tontura ou queixe se qualquer dor, a coleta de amostras será interrompida e o atendimento necessário pela equipe de pesquisadores será oferecido (aferação de pressão arterial, aplicação de medicamento caso haja necessidade pelo médico da equipe, e todas as medidas a fim de resguardar a saúde e bem estar do participante).

Caso o Sr(a) autorize, o material que sobrar será armazenado por 5 anos podendo ser utilizado em outros projetos de pesquisa. O senhor será contactado para assinar novo TCLE.

Sua participação é voluntária e ao concordar em participar o senhor não terá nenhuma despesa, assim como também nenhuma remuneração. Havendo necessidade de seu comparecimento para nova coleta no INPA ou sede do laboratório de referência, o pesquisador se responsabilizará pelo seu transporte e sua alimentação (caso necessário), bem como de seu acompanhante. Além disso sua participação neste projeto será de grande importância para o avanço a melhoria no tratamento da doença.

Mesmo após sua autorização, o sr(a) terá o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, independente do motivo e sem qualquer prejuízo.

Os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre. Se quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, faça contato com a pesquisadora pelo (92) 98155-7825 ou pelo email [ericcaoliveiras@gmail.com](mailto:ericcaoliveiras@gmail.com).

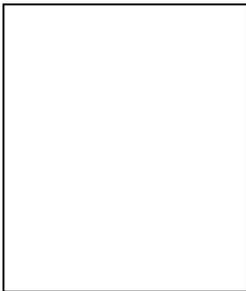
O Sr. participante da pesquisa também pode entrar em contato, caso tenha interesse como o Comitê de Ética do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, situado na sede Av. André Araújo, 2936, Prédio da Diretoria, térreo, Sala-CEP, telefone (92)3643-3287 ou pelo e-mail: [cep.inpa@inpa.gov.br](mailto:cep.inpa@inpa.gov.br).

#### Consentimento Após-Informação

Eu, \_\_\_\_\_, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

ou



\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_-\_\_\_\_\_  
Data

Impressão do dedo polegar

Caso não saiba assinar

## APÊNDICE II

### FICHA DE INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA

#### Dados do paciente

Nome do paciente		
Data de nascimento:	Idade:	Sexo: <input type="checkbox"/> 1.Masculino 2. Feminino
Telefone:	Endereço completo:	

#### Antecedentes Epidemiológicos:

Data da investigação:	Ocupação/ramo de atividade econômica:
-----------------------	---------------------------------------

Deslocamento (datas e locais frequentados no período de seis meses anterior ao início dos sinais e sintomas)	
Data:	Município:

#### Dados Clínicos

Presença de lesão: <input type="checkbox"/> 1.Cutânea 2.Mucosa 3.Cutânea difusa	Em caso de presença de lesão mucosa, há presença de cicatrizes cutâneas: <input type="checkbox"/> 1.Sim 2. Não
---	---

Parasitológico direto: <input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo 3. Não realizado	IDRM : <input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo 3. Não realizado	Tempo de evolução da lesão:
Número de lesões: Obs: Locais indicados no verso	Características das lesões:	

Outras infecções: 1. Diabetes 2. Dermatológicas 3. DST 4. Parasitárias Especificar: _____
Faz uso de algum medicamento? <input type="checkbox"/> 1. Sim 2. Não

#### Tratamento

Data de início do tratamento:	Droga inicial utilizada: <input type="checkbox"/> 1. Antimonial pentavalente 2. Anfotericina B 3. Pentamidina 4. Outras
Peso:	Dose prescrita em mg/kg/dia:
Outra droga utilizada na falência do tratamento atual: <input type="checkbox"/> 1. Antimonial pentavalente 2. Anfotericina b 3. Pentamidina 4. Não se aplica	

Local das lesões:

