

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Campus de Botucatu

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais

Edson Carvalho de Melo

Avaliação da eficácia e segurança da farmacoterapia da Leishmaniose Visceral.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) para obtenção de título de Doutor.

Orientador:

Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu, Junho de 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Melo, Edson Carvalho.

Avaliação da eficácia e segurança da farmacoterapia da Leishmaniose visceral : ensaio clínico em humanos / Edson Carvalho de Melo. - Botucatu, 2013

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Capes: 40101002

1. Leishmaniose visceral - Tratamento. 2. Medicamentos – Utilização. 3. Anfotericina B.

Palavras-chave: Anfotericina B; Anfotericina lipossomal; Antimoniato de N-metil gucamina; Eficácia e segurança; Leishmaniose visceral americana; Tratamento.

FINANCIAMENTO

ESTE ESTUDO FOI FINANCIADO PELA FINEP – AGÊNCIA
BRASILEIRA DE INOVAÇÃO, PROCESSO NÚMERO 01080331

Dedicatória

Dedicatória

À minha esposa, Adriana, que toma como suas as minhas escolhas. Dá sentido aos meus dias e a quem eu amo, cada dia mais.

À minha Mãe Raimunda Carvalho, para quem minhas palavras não são suficientes para agradecer por minha vida, seus exemplos e amor. Te amo!

Aos meus filhos: Andrew, Matheus, Heitor e Pedro, a quem tento dedicar, não só esta Tese, mas toda a minha vida.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu amigo e orientador Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, por sempre acreditar na minha capacidade, mesmo quando eu duvidei. Por ser tolerante com minhas dificuldades, mesmo quando exigente. E por me mostrar, ao longo de sete anos de orientação, que a amizade, a generosidade e o respeito são determinantes em nossas conquistas. Novamente, muito Obrigado!

Aos pacientes, foco maior da minha vida profissional e sem os quais este estudo não seria realizado.

Agradecimentos

Aos coordenadores dos centro de estudo, pelo apoio no andamento do ensaio clínico: Dra. Maria Rita de Cássia Monteiro; Dra Arlene de Jesus caldas; Dr. José Angelo Lauletta Lindoso; Dr. Valdir Sabbaga Amato.

À Rita de Cássia Athanázio pelo apoio logístico e operacional em todas as etapas de projeto.

Aos Enfermeiros e Técnicos de enfermagem do Hospital Estadual Manoel de Abreu; em especial ao meu amigo, Enfermeiro José Cláudio Simão, pelas inestimáveis ajudas durante este projeto. Muito Obrigado!!

Aos Amigos médicos do Hospital Estadual Manoel de Abreu, em especial meu irmão Dr. Gilberto Grando de Goes, pelos vários momentos em que despretensiosamente me auxiliaram neste projeto. Valeu!!!

À minha família em Belém: Minhas irmãs: Elizabeth, Eliane e Ana Carla; meu irmão: Elmison; meus sobrinhos Kevin, Alan e Vitória, Meus cunhados: Rogério e Luan, por que mesmo distante, mantém o amor e o incentivo às minhas realizações. Eu amo vocês.

À Minha Família botucatuense: Domingos, Laura, Viviane, Zuel, Tati, Anderson e Clara pela ajuda diária na realização de meus sonhos. Eu amo vocês.

À Solange, secretária da pós e amiga, por sete anos de paciência e auxílio.

A todos os docentes do departamento de doenças tropicais, em especial à “tia Lê”, por todos os ensinamentos.

Aos amigos do Hospital Estadual Bauru: Valeria, Gustavo, Meire, Aline, Taylor, Lucas, Renata e Soraya, por todos os pacientes diagnosticados e encaminhados.

Aos que me fortalecem com suas orações.

Epígrafe

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos. ”

Charles Chaplín

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	16
OBJETIVOS	36
METODOLOGIA	38
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	81
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS.....	91
APÊNDICES.....	103

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma doença de letalidade significativa e em disseminação no território brasileiro. É causada pela *Leishmania infantum chagasi*, parasita transmitido por artrópodes (*Lutzomyia longipalpis*) e tem como reservatórios cães e animais silvestres. Embora endêmica em zonas rurais das Regiões Nordeste, Norte e Centro-Oeste do País há várias décadas, a LVA tem emergido como doença urbana (muitas vezes epidêmica), em áreas anteriormente não afetadas. Nestas últimas, está o Estado de São Paulo, onde os primeiros casos autóctones foram detectados em 1999. As opções terapêuticas para LVA são escassas, e associadas a frequentes recidivas e eventos adversos. Há grande tradição em seu tratamento com antimoniais pentavalentes (mais especificamente o antimoniato de N-metil glucamina). Mais recentemente, as formulações de anfotericina B (deoxicolato e lipossomal), tem sido indicadas para quadros mais severos. No entanto, faltam ensaios clínicos que embasem essa superioridade no tratamento de LVA, e muitas das indicações são feitas por analogia com pesquisa realizada na Índia, África ou Europa. O estudo foi planejado para preencher esse hiato na pesquisa clínica relativa à LVA. Tratou-se de ensaio clínico aberto, multicêntrico, envolvendo instituições nos Estados do Pará, Maranhão e São Paulo. Foram incluídos pacientes com diagnóstico parasitológico de LVA que manifestaram aceite em participar por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aplicado aos próprios sujeitos ou aos seus representantes legais. Foram excluídos pacientes co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), portadores de neoplasia, usuários de imunossupressores, gestantes e aqueles para os quais os guias terapêuticos do

Ministério da Saúde (MS), ou das Secretarias Estaduais da Saúde recomendavam o uso da anfotericina B – definição que abrangia aqueles sujeitos com critérios de gravidade. Os pacientes foram acompanhados com exame clínico e testes laboratoriais nos dias 0, 3, 7, 14, 30, 90 e 180. Foram avaliadas falhas terapêuticas, recidivas e eventos adversos. Ao todo, 59 sujeitos foram incluídos. Destes, 33 completaram seguimento (11 em cada braço terapêutico). A resposta clínica adequada (cura sustentada) foi semelhante entre as formulações de anfotericina (90,9% em cada) e antimoniato (81,8%). A normalização de parâmetros laboratoriais (hemograma) foi, em geral, significativamente mais precoce para sujeitos em uso de anfotericina B, com resposta mais favorável da formulação lipossomal. Na análise de segurança, observou-se nefrotoxicidade em 42% dos sujeitos que utilizaram anfotericina B deoxicolato, incidência significativamente superior à observada com as outras medicações. No entanto, pancreatotoxicidade e hepatotoxicidade foram mais frequentes entre aqueles randomizados para uso de antimoniato de N-metil glucamina. Estes também apresentaram tendência marginalmente significativa para maior incidência de toxicidade cardíaca. Em conclusão, nossos achados, embora baseados em pequeno número de casos, apontam para recuperação fisiológica mais precoce com uso da anfotericina B, e melhor perfil de segurança da formulação lipossomal.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral Americana; tratamento; anfotericina B; anfotericina B lipossomal; antimoniato de N-metil glucamina; eficácia e segurança.

ABSTRACT

American Visceral Leishmaniasis (AVL) is a disease that causes significant mortality. Since the past two decades it is disseminating widely in Brazil. Its etiologic agent is *Leishmania infantum chagasi*, a vector-borne parasite. Traditionally, AVL was regarded as an endemic disease in Northern and Northeastern States, but it has emerged in urban areas and in Southeastern States. In São Paulo State, autochthonous cases occur since 1999. Therapeutic options for AVL are scarce, and all leishmanicidal drugs are associated with failures, relapses and serious adverse events. Meglumine antimoniate has been the first-line therapy in Brazil for many decades. Lately, amphotericin B deoxycholate or in liposomal formulation have been recommended for more severe cases. However, those data are extrapolated from studies conducted in India, Africa and Europe. The study was designed to fulfill this gap. It was a multicenter, randomized, open-label study that compare the efficacy and safety of three therapeutic options: meglumine antimoniate, amphotericin B deoxycholate and liposomal amphotericin B. Patients with parasitological confirmation of AVL were included. Those that were co-infected with HIV or who had immune-suppressing conditions or pregnancy were excluded. We also excluded those for whom governmental guidelines recommended the use of amphotericin B. Patients were followed with physical examination and laboratory tests on days 0, 3, 14, 30, 90 and 180. We included 59 subjects, 33 of whom completed follow-up (11 in each arm). Clinical response was similar for all groups. However, those receiving amphotericin were more likely to have early recovery of hemoglobin dosage and white cell counts, as well as serum albumin. There was a discrete tendency of better response with liposomal

amphotericin. Nephrotoxicity was striking among those receiving amphotericin deoxycholate (42%), an incidence significantly higher than that observed with the other drugs. Toxicity for pancreas and liver predominated among those receiving antimoniate. In conclusion, our study pointed out to early physiological recovery with amphotericin B (as a whole), and better safety profile for liposomal amphotericin B.

Key-words: Visceral leishmaniasis; therapy; amphotericin B; liposomal amphotericin B; meglumine antimoniate; efficacy; safety.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

1. Leishmaniose Visceral americana: definição e relevância.

A Leishmaniose Visceral é uma zoonose de grande prevalência mundial. Reconhecida em seres humanos há mais de um século, ela continua a atingir amplas populações apesar dos esforços modernos para contê-la. Sua variante no Novo Mundo é conhecida como Leishmaniose Visceral Americana (LVA)*.

Duas décadas atrás, a LVA era definida como endemia predominantemente rural. No entanto, tem gradualmente se tornado doença de prevalência urbana, principalmente em áreas de médio e grande porte.^{1,2}

Considerada uma doença de comportamento epidemiológico cíclico, apresenta períodos de elevação no número de casos a cada cinco anos. Até a década de 1990, a área de abrangência da LVA era principalmente constituída pelo Nordeste Brasileiro. Atualmente, a doença atinge 20 estados do país. No período de 1990 a 2007, foram notificados mais de quinhentos mil casos, com nítida predominância em crianças e no sexo masculino.^{1,2, 15}

A LVA é uma doença infecciosa sistêmica, de apresentação subaguda ou crônica, com período de incubação prolongado que pode durar de semanas a meses ou até anos. Cursa com febre contínua, sem horário preferencial; astenia, de apresentação insidiosa; inapetência é comum, com perda ponderal progressiva, que pode evoluir para desnutrição proteico-calórica grave.^{2,3}

* Ao longo do texto, utilizaremos o termo “Leishmaniose Visceral” para nos referirmos à doença em geral (de um ponto de vista mundial) e LVA para indicar a variante da doença encontrada na América Latina.

A ocorrência de diarreia é comum, podendo haver aumento de volume abdominal, geralmente secundário à hepatomegalia e esplenomegalia. A esplenomegalia normalmente é mais intensa, na maioria dos casos, mas ambas podem estar ausentes em pacientes imunossuprimidos, notadamente aqueles com Aids. Icterícia e sangramentos são mais comuns em casos graves. Tosse seca é queixa menos freqüente.

Entre as características laboratoriais, predomina a ocorrência de pancitopenia. Entretanto, muitos pacientes podem apresentar apenas uma citopenia. Há alteração importante de proteínas, com hipoalbuminemia e inversão na relação albumina-globulina. Há elevação de enzimas hepáticas e, em casos mais graves, ocorre alteração nos fatores de coagulação, sendo esse um fator associado ao pior prognóstico.³

No Brasil, a LV é causada pela *Leishmania infantum chagasi*, que faz parte do complexo *Donovani*. Morfologicamente, apresenta-se em duas formas: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e outra aflagelada ou amastigota, que é intracelular obrigatória, sendo encontrada nas células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro vertebrado.^{2,3} É transmitida pela picada de um mosquito do gênero *Lutzomyia longipalpis*, conhecido como “mosquito palha” ou “birigui”; nas cidades de Corumbá e Ladário, no estado de Mato Grosso do Sul, a transmissão parece também ser realizada pela *Lutzomyia cruzi*. Nessas localidades, não havia sido constatada a presença de *L. longipalpis* até 2003.

A Leishmaniose Visceral é uma doença oportunista, com prevalência em pessoas em condições sócio-econômicas desfavoráveis e importante emergência em co-infecção com Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Também se caracteriza como doença negligenciada, com baixo investimento em pesquisa por parte da indústria farmacêutica. Além disso, o desconhecimento da população e dos órgãos de saúde sobre suas características e o período de incubação extenso levam a diagnóstico tardio, acentuando seu caráter potencialmente fatal.^{2,4}

2. Leishmaniose Visceral: epidemiologia e impacto global.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a Leishmaniose Visceral está entre as seis doenças parasitárias de maior prevalência global. Ela ocorre na Ásia, algumas áreas da Europa, Oriente Médio, na África e nas Américas, em números alarmantes de cerca de 500 mil novos casos ao ano, com 50.000 óbitos. Enfatize-se que em alguns países ela não é doença de notificação compulsória, o que pode significar que estas estatísticas subestimam sua incidência.^{5,6}

A Leishmaniose Visceral, assim como várias outras doenças negligenciadas no mundo, apresenta usualmente uma distribuição focal, ocorrendo nas periferias ou em locais remotos. A forma visceral da doença é grave e potencialmente fatal, se não tratada. Além disso, mesmo nos locais em que há acesso ao tratamento, pode passar despercebida. É uma doença fortemente ligada à pobreza e 90% dos casos estão nas áreas mais pobres de Bangladesh, Índia, Nepal, Etiópia, Sudão e Brasil.^{5,6}

Em todos esses países ela representa um desafio em termos de prevenção e tratamento. Este último item impõe, como veremos adiante, uma série de dificuldades, relacionada a taxas significativas de falhas, recidivas e toxicidade.

Ao longo dos anos, a Leishmaniose visceral tem causado epidemias em larga escala, com altas taxas de letalidade, e com frequência, ocorrem em locais de difícil acesso. Epidemias mais recentes ocorreram entre 2005 e 2006, na Etiópia, em 2008 no Quênia e no Sudão em 2009. Em todos os casos, observa-se a desnutrição e movimentos populacionais em massa como fatores de risco relevantes para aquisição da doença.^{5,6}

Entre os anos de 1984 e 1994 o Sudão sofreu uma devastadora epidemia de Leishmaniose, a população, até então sem contato com a doença, era suscetível, alguns estudos estimaram mais de 100.000 mortes em uma população de apenas 300.000 pessoas. Em algumas aldeias, mais da metade da população morreu da doença.^{6,7}

Na Índia, ao norte do Estado de Bihar, que responde sozinho por mais de 90% dos casos daquele país e onde há transmissão inter-humana, há baixa adesão aos tratamentos e seguimentos, elevando-se a vulnerabilidade ao desenvolvimento de resistência às drogas disponíveis, mesmo na ausência de um reservatório animal. Nessa localidade, atribui-se ao ser humano um papel relevante de reservatório da doença.

Neste sentido, vários estudos têm sido realizados, buscando fatores de risco específicos para desenvolvimento de Leishmaniose Visceral. Além disso, há pesquisas que buscam a identificação de esquemas terapêuticos alternativos,

combinados ou mais breves, que pretendem reduzir o alto custo da doença para a saúde pública dos países mais afetados e que possuem recursos limitados.^{7,8,9}

Reconhecendo estas limitações, aprovou-se na Assembléia Mundial de Saúde em 2007, a Resolução WHA60.13, sobre o controle da Leishmaniose. A Resolução encoraja a pesquisa de medicações mais seguras e eficientes, com menor custo e com menor tempo de administração.¹⁰

Na Europa desde 1994, com o aumento de casos de co-infecção Aids-Leishmaniose, observou-se gradual incremento nos números da doença. Os casos estão bem concentrados no sudoeste europeu, em cidades com alta densidade populacional. Os países mais afetados são Portugal, em cidades como Lisboa e Porto; na Espanha, em cidades como Madri, Barcelona e Sevilha; Nice e Cannes na França e Gênova e Milão na Itália.^{11,}

No sul da Europa há alta prevalência de portadores de *L. infantum*, principal gênero presente naquele continente, sendo, portanto uma ameaça latente à saúde pública. Atualmente é a terceira doença parasitária oportunista relacionada a Aids, perdendo apenas para Toxoplasmose e Criptosporidiose. Nesse ponto, é relevante recordar que estudos recentes de filogenética reconhecem identidade entre *L. Infantum* e *L. chagasi*, que parecem ser na verdade uma mesma espécie.^{11,12}

Apesar da aparente delimitação geográfica da doença na Europa, alguns relatos de pacientes que não estiveram em zonas endêmicas e foram diagnosticados na Europa central, parece demonstrar sua tendência à disseminação.^{12,13}

3. Leishmaniose na América Latina:

A LVA foi descrita em 1913, por Migone, no Paraguai, em relato da necropsia de um paciente oriundo de Corumbá, no Mato Grosso do Sul- Brasil. Pelo menos 12 países já têm a doença notificada, com número de casos crescentes na Colômbia, Peru e México. Entretanto o Brasil, sem dúvida, é o recordista em número de casos nas américas, onde a média no período de 2005 à 2009 foi de 3.679 casos/ano, e uma taxa de letalidade de 5,8% em 2009.^{14,15,16}

Desde a virada da década de 1989, o fenômeno epidemiológico de mais preocupante é a urbanização da doença. A primeira epidemia urbana registrada no país ocorreu em Terezina, no Piauí. Desde então várias cidades das Regiões Norte, Nordeste e – mais recentemente – Sudeste tem registrado incidência crescente da doença nas periferias.^{15,16}

O Estado de São Paulo exemplifica essa re-emergência da LVA. Historicamente, São Paulo reportava casos importados, oriundos de regiões endêmicas do País. O primeiro caso autóctone foi registrado em 1999, na cidade de Araçatuba, extremo oeste do Estado. O caso ocorreu cerca de dois anos após o registro de transmissão canina no município. Até maio de 2013, mais de 70 cidades do Estado haviam notificado casos autóctones de LVA .

Essa situação é consequência das modificações sócio-ambientais, como o desmatamento, que obriga a adaptação do vetor a novos ecotopos, por reduzir suas fontes de alimentação e coloca o cão doméstico e o homem, como alternativas mais acessíveis; além do processo migratório que trouxe para a periferia urbana a população humana e canina das regiões rurais do país.^{16,17}

Desde aquele ano, até o final de 2012, um total de 2.155 pacientes adquiriram LVA no Estado. A média anual de casos sofreu pequena queda nos anos recentes. Houve também redução da letalidade, de 11% em 1999-2004 para 8% em 2005-2012.¹⁷

4. Letalidade e Fatores Prognósticos.

A importância da LVA para a saúde pública deve-se, em grande parte, às altas taxas de letalidade observadas. Dados do MINISTÉRIO DA SAÚDE (2006) indicaram elevação da letalidade, atingindo 8,5% em 2005, mas recuando em 2009 para 5,8%.^{17,18}

No Estado de São Paulo, observou-se taxa semelhante: 8,6%. Por outro lado, dados do estudo de Madalosso et al¹⁸ – que avaliaram casos em hospitais de referência no mesmo período – identificaram taxa de letalidade em torno de 14%. Os dados oficiais recentes, também detectam leve queda para 7,4%.

Alguns autores apontam que as principais causas de morte são as hemorragias, sepses, insuficiência hepática e a cardiotoxicidade (esta secundária ao tratamento com antimoniais). Eles também mostram que ocorrências freqüentes de Leishmaniose Visceral em pacientes imunossuprimidos (Ex.: co-infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana, portadores de Neoplasias Hematológicas), ou com outras co-morbidades, podem ter contribuído para o aumento observado na letalidade. No entanto, segundo estes autores, a maior parte dos óbitos continua a ocorrer em indivíduos previamente hígidos, especialmente nos extremos de idade, com febre há mais de 60 dias, icterícia, diarreia, anemia grave e que tiveram necessidade de uso de antibióticos.^{19,20,21}

Um estudo retrospectivo de coorte realizado em Recife, em crianças (menores de 15 anos de idade), identificou fatores de risco semelhantes aos estudos anteriores, associados à morte por Leishmaniose: hemorragia da mucosa, icterícia, dispnéia, Infecções bacterianas e redução no número de neutrófilos e de plaquetas.²² Entretanto, Oliveira et al²³ em estudo realizado em Campo Grande, identificaram apenas Infecções bacterianas, como a principal causa de morte entre os pacientes com LVA.

No Brasil e provavelmente no Mundo, devemos levar em conta o estudo de Araújo et al²⁴, que identificaram as mesmas manifestações, além de fraqueza e co-infecção com HIV, como indícios precoces relacionados ao óbito. Neste sentido, o estudo considera que os pacientes se beneficiariam de uma antecipada e especializada avaliação do prognóstico, que favoreceria o manejo clínico e reduziria da letalidade da doença.

Em escala global, estudos apontam algumas similaridades, mas também diferenças nos fatores de risco para óbito por Leishmaniose Visceral em relação aos Estudos brasileiros. Conforme Seaman et al²⁵, a idade maior que 45 anos, duração da doença maior que 5 meses, desnutrição e anemia intensa, foram associados com um aumento no risco de morte por Leishmaniose Visceral no Sudão.

Estes dados foram confirmados posteriormente, em estudo também realizado no Sudão, por Gorski et al²⁶, que relataram como fatores relacionados à morte: a idade menor de 2 anos ou maior que 45 anos, duração da doença maior que 5 meses, desnutrição, anemia, esplenomegalia e, em particular, episódios de vômitos, diarreia e sangramento.

5. Desafios no manejo da Leishmaniose Visceral: diagnóstico.

O diagnóstico de Leishmaniose Visceral no Brasil e nos demais países onde a doença é endêmica, classicamente requer amostras de tecidos, as quais são convencionalmente obtidas por aspiração de medula óssea, do baço e de linfonodos; para demonstração microscópica de formas amastigotas de *Leishmania* em esfregaços.

A sensibilidade diagnóstica do aspirado do baço é elevada (95% - 98%), mas o procedimento acarreta um risco de hemorragia, normalmente desnecessário de se correr. A sensibilidade da análise de medula óssea é considerada mais baixa (53% - 95%) e ambas as técnicas exigem habilidades profissionais que não estão uniformemente disponíveis em todos os serviços de saúde. Cultura ou teste de Reação de polimerase em cadeia (PCR), de material aspirado, melhoram a sensibilidade do exame parasitológico, mas o primeiro é demorado e o último raramente é realizado fora do laboratório de pesquisa.^{1,2,27}

Algumas pesquisas tem sido conduzidas no sentido de facilitar o diagnóstico da Leishmaniose Visceral; uma das possibilidades, entre outras, é o diagnóstico sorológico com o rK39 que é uma proteína recombinante derivada de um antígeno específico produzido pelo complexo *Donovani* da *Leishmania* e que tem sido usada nas últimas duas décadas, para o diagnóstico sorológico de leishmaniose Visceral.^{28,29,30}

Uma revisão sistemática com meta-análise, onde de 312 estudos encontrados, apenas 14 cumpriram os critérios de seleção. Os estudos compararam o antígeno rK39, em fita teste (imunocromatografia) e por ELISA (Enzyme Linked

Immunosorbant Assay), que utilizam antígenos das formas amastigotas; com testes sorológicos, que utilizam antígenos de formas promastigotas: p-ELISA, soro-aglutinação direta e imunofluorescência indireta.³⁰

Foram 2.097 casos e 3.451 controles, dos seguintes países: Brasil, Índia, Nepal, Kuwait, Tunísia e Itália. A avaliação mostrou que o rK39 usado em fita teste ou em ELISA e a soro-aglutinação direta são as melhores escolhas para implementação de teste rápido, simples e eficaz para o diagnóstico sorológico de Leishmaniose Visceral.³⁰

6. Desafios no manejo da Leishmaniose Visceral: tratamento.

Segundo a OMS, por ser a Leishmaniose Visceral uma doença de grande repercussão mundial e mesmo sendo considerada uma das seis grandes doenças negligenciadas, há grande esforço das autoridades de saúde no Mundo, para melhorar a eficiência das alternativas terapêuticas e diagnósticas à Leishmaniose.³¹

No Brasil temos apenas três medicações disponíveis: Antimoniato de N-metil glucamina, deoxicolato de anfotericina B e anfotericina lipossomal; em outros países, outras medicações são rotineiramente utilizadas para o tratamento de Leishmaniose Visceral, entre elas a miltefosina e a paromomicina.

6.1. Antimoniato de N-metil glucamina.

Os antimoniais pentavalentes tem sido o tratamento de primeira linha por mais de 70 anos. São drogas consideradas leishmanicidas, pois interferem na bioenergética das formas amastigotas de *Leishmania*. Tanto a glicólise, quanto a oxidação dos ácidos graxos, processos localizados em organelas peculiares, são inibidos. Essa inibição é acompanhada de redução na produção de ATP e GTP.^{1,2,32}

Os Antimoniais são também amplamente conhecidos por sua toxicidade. Os sinais iniciais são: Mialgias, artralgias, astenia e bradicardia. Pode também haver nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, alteração pancreática e anafilaxia. Esta última é considerada rara. A cardiopatia é especialmente preocupante. Além da bradicardia, alterações no intervalo QT no eletrocardiograma são, dos efeitos tóxicos ao antimoniato de N-metil glucamina, os mais graves. Um estudo de Sadeghian G et al³², que avaliaram 131 pacientes, 19% (25 pacientes) apresentaram esta alteração, um deles com significativa gravidade.

Este tratamento além de tóxico (3-5% mortes são atribuídas aos eventos adversos) e longo (20 a 30 dias), é acompanhado por aumento nas taxas de falha,. No Estado de Bihar, na Índia, registrou-se até 60% de falhas no tratamento, um fenômeno que presume-se ser causado por resistência ao antimoniato..^{31,33}

Al-Jaser M et al,³⁴ sugeriram, já em 1995, que as variações no tempo de exposição ao antimoniato poderiam influenciar na resposta clínica ao tratamento, pois diferenças significativas foram observadas entre os pacientes na taxa de eliminação de antimoniais e análise da área sob a curva. Entretanto, em outras regiões da Índia os antimoniais permaneciam efetivos, neste sentido os

mecanismos de resistência à droga ainda não estão muito bem esclarecidos, mas presume-se que haja redução da concentração do fármaco no interior do parasita, ou por diminuição da absorção ou por aumento do efluxo. Outros potenciais mecanismos de resistência são: a inibição da ativação da droga; a inativação da atividade da droga e a amplificação genética.^{33,34,35,36,37,38}

No Brasil não há estudos sobre resistência aos antimoniais pentavalentes, sendo ainda considerados medicamentos de primeira linha para pacientes entre 6 meses e 65 anos incompletos, segundo portaria do Ministério da saúde e para pacientes entre 10 e 50 anos, segundo portaria do Estado de São Paulo.^{1,2}

6.2. Miltefosina.

O primeiro medicamento oral contra Leishmaniose Visceral, tem sido recomendado como medicamento de primeira linha na iniciativa de eliminação, tendo sido relatado com altas taxas de eficácia, mesmo em casos não responsivos aos antimoniais, mas é teratogênico e é suspeito de rapidamente dar origem a resistência, devido à sua meia-vida longa.^{38,39,41}

Em um ensaio clínico multicêntrico na Índia onde foram avaliados 1.132 pacientes, entre adultos e crianças com leishmaniose visceral tratados com miltefosina; observou-se taxas de cura de 82%, na análise de intenção de tratar e 95% por análise de protocolo. Neste estudo, cerca de 3% dos pacientes desenvolveram eventos adversos, como toxicidade gastrointestinal, e principalmente elevação de enzimas hepáticas e da creatinina.⁴⁰

Miltefosina é estritamente proibida em mulheres em idade fértil que podem engravidar até dois meses após a descontinuação da droga. Esta droga não é licenciada no Brasil, mas na Índia é disponível sem prescrição médica. Este fato pode expor a droga ao uso indevido e emergência de resistência.⁴²

Ritmeijer et al⁴², conduziram um estudo com 580 pacientes do sexo masculino, para comparar a eficácia de miltefosina e estibogluconato de sódio (SSG) no tratamento da leishmaniose visceral em pessoas na Etiópia. Foram randomizados para receber miltefosina oral (100 mg por dia durante 28 dias) ou SSG intramuscular (20 mg / kg por dia durante 30 dias). A taxa de cura inicial foi de 88% em ambos os grupos de tratamento. A mortalidade durante o tratamento foi de 2% no grupo do miltefosina, em comparação com 10% no grupo SSG. Entretanto houve falha no tratamento inicial de 8%, no grupo de miltefosina, em comparação com 1% no grupo de SSG.

Entre os 375 pacientes (65%) que concordaram em testes de HIV, a soroprevalência foi de 29%. Entre os pacientes não infectados com o HIV, cura inicial, mortalidade e taxas de falhas iniciais de tratamento não foram significativamente diferentes (94% vs 95%, 1% contra 3% e 5% contra 1% para a miltefosina e grupos do SSG, respectivamente). Entretanto falha no tratamento inicial com miltefosina ocorreu em 18% dos pacientes co-infectados pelo HIV, em comparação com 5% de não co-infectados. A taxa de mortalidade no grupo do miltefosina foi de 6% e de 12% no grupo SSG, portanto miltefosina não é uma opção segura em com co-infecção Aids/Leishmaniose.⁴²

No Brasil, não há publicações relatando uso clínico da miltefosina. Entretanto, um ensaio clínico conduzido por Dietze (comunicação pessoal) foi interrompido devido ao grande número de falhas observado.

Deoxicolato de anfotericina B e anfotericina lipossomal:

O deoxicolato de anfotericina B tem sido usado como um tratamento de segunda linha para a Leishmaniose Visceral desde os anos de 1960. Este fármaco exibe uma excelente atividade leishmanicida com taxas de cura maiores que 90%-95% em trabalhos na Índia, Brasil e outros países endêmicos. Recaídas e não respostas são raras, exceto entre os pacientes infectados pelo HIV.^{43,44,45} Nessa população, episódios secundários de Leishmaniose Visceral são comuns, principalmente por recaída, 7 de 10 casos, mas também há casos de re-infecções.⁴⁴

O mesmo estudo não revelou diminuição da sensibilidade entre *leishmanias* recolhidas a partir de doentes infectados com HIV durante os repetidos episódios de Leishmaniose Visceral (média de seguimento: 35,6 meses; intervalo: 3-137 meses), apesar dos repetidos cursos do fármaco; estes dados indicam que a deoxicolato de anfotericina B permanece uma droga muito útil para o tratamento ou profilaxia, neste grupo de pacientes.⁴⁴

Apesar de o esquema de rotina para deoxicolato de anfotericina B, ser de 1mg/kg/dia, administrado por 20 a 30 dias, um estudo recente na Índia mostrou 96% de taxas de cura com uma dose de 0,75 mg / kg / dia, durante 15 dias.⁴⁴

As principais desvantagens do deoxicolato de anfotericina B são a sua administração prolongada e os efeitos adversos frequentes: tais como febre, calafrios, nefrotoxicidade e hipocalcemia; que necessitam de administração

hospitalar. Ela é usada extensivamente na Índia, para os casos que não respondem aos antimoniais ou mesmo como uma primeira linha em alguns pacientes específicos.

Das et al⁴⁶, em estudo de 2009 realizado em Bihar, mostrou taxa de cura aparente no grupo deoxicolato de anfotericina B de 95% (39/41), em comparação com 83% (34/41) no grupo de pentamidina, diferença estatística significativa ($p = 0,05$). A taxa de cura final encontrada foi de 92% (38/41) no grupo da anfotericina B, comparado com 73% (30/41) no grupo de pentamidina, demonstrando também uma diferença estatisticamente significante ($p = 0,04$). Da mesma forma, a taxa de reincidência no grupo da anfotericina, comparado com o grupo da pentamidina teve $p = 0,03$. No entanto, fora da Índia este fármaco parece não oferecer qualquer vantagem sobre o antimonial pentavalente.

Em outro estudo realizado na Espanha comparando a anfotericina na dose de 0,7mg/kg/dia com o antimonial pentavalente 20mg/kg/dia; ambos por 28 dias, em pacientes com co-infecção Aids/Leishmaniose, alcançou cura inicial em 29 de 44 pacientes (65,9%) randomizados para o tratamento com antimoniato de N-metil glucamina e 28 de 45 (62,2%) aleatoriamente designados para tratamento com o deoxicolato de anfotericina B. A incidência de moderados a graves eventos adversos foi similar em ambos os grupos.⁴⁷

Os pacientes tratados com antimoniato N-metil glucamina, tiveram maior incidência de Cardiotoxicidade (14 versus 0,0%, $P = 0,02$) e Pancreatite química (30 versus 0,0%, $P < 0,01$). No entanto, no grupo de deoxicolato de anfotericina B, a nefrotoxicidade foi mais frequente (36 versus 5%, $P < 0,01$). Não houve diferença na sobrevivência ou recidiva.⁴⁷

Em relação às formulações lipídicas de anfotericina B, elas melhoraram muito o perfil de segurança do fármaco. São absorvidas seletivamente pelo sistema retículo-endotelial, e exibem uma ação altamente leishmanicida.

São três formulações lipídicas de anfotericina B: lipossomal, complexo lipídico e de dispersão coloidal. Atualmente a lipossomal é a primeira escolha no tratamento em países do sudoeste da Europa, em áreas endêmicas. Também é droga de escolha em outros países desenvolvidos, em virtude de sua rápida ação e taxas de cura até de 100% com 3-5 dias de esquema.^{48,49,50,51,52}

No entanto, em países pobres, até mesmo cursos curtos de formulação Lipossomal são inacessíveis, a seleção de tratamento leishmanicida torna-se mais uma questão de custo que de eficácia ou toxicidade.^{48,50}

Ainda assim, recentemente, um esquema de dose única de anfotericina lipossomal, na dose única de 10mg/kg, em comparação com tratamento com deoxicolato de anfotericina B, na dose de 1mg/kg/dia por 15 dias, foi avaliado na Índia. Um total de 410 pacientes randomizados. 304 de 304 pacientes (100%) no grupo de lipossomal e 106 de 108 (98%) no grupo de deoxicolato, tiveram cura aparente em 30 dias. Em 6 meses as taxas de cura foram similares nos dois grupos: 95,7% (IC95%=93,4%-97,9%) no grupo da lipossomal e 96,3% (IC95%=92,6%-99,9%) no grupo de deoxicolato de anfotericina B.⁹

Os eventos adversos no grupo de terapia com a anfotericina lipossomal foram febre ou calafrios (40%), além de aumento na anemia ou trombocitopenia (2%); tais eventos no grupo de terapia com deoxicolato de anfotericina B, apresentaram percentuais superiores: Febre e calafrios (64%), aumento da anemia ou

trombocitopenia (19%) e ainda houve hipocalcemia (2%). No mesmo estudo, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade apresentaram baixo percentual, para ambas as drogas (1%). Concluiu-se que uma única infusão de anfotericina lipossomal não foi menos eficaz e foi menos dispendiosa que a terapia convencional com o deoxicolato de anfotericina B.⁹

Desde a década de 1990, em boletim da OMS, recomenda-se o uso de anfotericina lipossomal em doses e tempo de administração diferentes, nos países em desenvolvimento, mostrando também diferença nas taxas de toxicidade.⁵¹

As formulações lipídicas aparentemente, a despeito das doses, apresentam taxas de cura semelhantes em paciente com co-infecção Aids/Leishmaniose. Há grande vantagem destas em relação aos eventos adversos, com importante significância estatística.⁵²

Em relação à dose da anfotericina lipossomal e tempo de administração, os dados são controversos, mas todos os trabalhos mostram-se com taxas elevadas de cura (90-100%), mesmo em diferentes esquemas, para diferentes tipos de pacientes e em diferentes regiões do mundo.^{51,52,53,54,55}

6.3. Paromomicina

É um aminoglicosídeo com atividade leishmanicida. É de baixo custo, mas exige administração intramuscular diária por 21 dias. Em um estudo de fase III de Leishmaniose Visceral na Índia, este fármaco foi associado com taxas de cura de 94,6%, semelhante ao deoxicolato de anfotericina B.⁵⁶

Os eventos adversos foram mais frequentes no grupo tratado com paromomicina em comparação com o grupo tratado com a anfotericina (6% versus 2%); que incluem elevação de transaminases hepáticas, ototoxicidade e dor no local da injeção, para o primeiro fármaco.⁵⁶

A paromomicina inibe a síntese proteica e modifica a fluidez da permeabilidade de membrana. Um estudo *in vitro* mostrou que, após uma exposição de 72 horas à paromomicina, os promastigotas e amastigotas (*L. donovani*), tem o potencial mitocondrial reduzido, o que indica que mitocôndrias são os alvos da droga.⁵⁷

Considerando que se trata de um aminoglicosídeo, alguns autores ressaltam que é possível o rápido surgimento de resistência, se a droga for utilizada como monoterapia.^{41,56,57}

Com a ampliação dos esforços para melhorar o tratamento da LVA, vem crescendo o interesse em terapias combinadas, como as que ocorrem em outras doenças infecciosas, tais como Aids e Tuberculose.

Em países como Sudão e Índia estas possibilidades têm sido avaliadas desde a década de 1990 em estudos como os de Thakur CP et al⁵⁸ que avaliaram a combinação de paromomicina e antimoniais e Seaman J et al⁵⁹ que realizaram um estudo randomizado avaliando aminosidine associado ao estibogluconato de sódio, em comparação com o estibogluconato sozinho. Desde aquele período, observa-se que terapias combinadas, podem apresentar-se com melhor eficácia e menor toxicidade, uma vez que doses menores, de cada fármaco, são utilizadas. No Brasil ainda não temos estudos com este tipo de abordagem.

7. Justificativa do presente estudo.

Como podemos observar acima, e a despeito de ser a Leishmaniose Visceral classificada como “doença negligenciada”, há considerável corpo de evidência relacionado ao seu tratamento – predominantemente na Índia, mas também no Sudão e em países europeus. No Brasil, apesar de décadas de enfrentamento da forma local da doença, a LVA, ensaios clínicos de porte significativo não foram conduzidos até o momento. De fato, a conduta terapêutica tem se baseado fortemente em opiniões de especialistas, avaliações de dados coletados no sistema de vigilância epidemiológica e em analogia aos resultados de pesquisa clínica do Velho Mundo. Cabe a pergunta: Serão essas evidências perfeitamente transponíveis para a espécie e as cepas prevalentes no Brasil?

Com esse objetivo, a Secretaria de Vigilância em Saúde solicitou ao Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) do Ministério da Saúde a abertura de edital para pesquisa clínica multicêntrica voltada a avaliar a eficácia e segurança das opções terapêuticas disponíveis para o tratamento da LVA. Este estudo nasceu como resposta àquele edital, e buscando acrescentar evidências para a expedição de recomendações terapêuticas efetivas em território brasileiro.

OBJETIVOS

OBJETIVOS:

Objetivo geral:

- Avaliar a eficácia e segurança do deoxicolato de anfotericina B e da anfotericina lipossomal em comparação com o antimoniato de N-metil glutamina, no tratamento da Leishmaniose Visceral.

Objetivos específico:

- Avaliar a ocorrência de falhas terapêuticas e recidivas em pacientes tratados com o deoxicolato de anfotericina B e a anfotericina lipossomal em comparação com aqueles tratados com antimoniato de N-metil glucamina.
- Avaliar a ocorrência e a gravidade da toxicidade (cardíaca, pancreática, renal e outras) em pacientes tratados com o deoxicolato de anfotericina B e a anfotericina lipossomal em comparação com o antimoniato de N-metil glucamina.

METODOLOGIA

METODOLOGIA:

1. Delineamento.

O presente estudo é um ensaio clínico randomizado, conduzido em resposta ao edital de CHAMADA PÚBLICA MCT/FINEP/MS/SCTIE/DECIT CT- SAÚDE/FNS PESQUISA CLÍNICA 02/2007. Está cadastrado na International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP), sob o registro UTN (Universal Trial Number): V111-1126-1673.

Trata-se de um trabalho multicêntrico, aberto, com participação das Unidades de Pesquisa Clínica das seguintes faculdades/universidades:

- Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB-UNESP);
- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP);
- Universidade Federal do Maranhão (UFMA);
- Universidade Federal do Pará (UFPA).

2. Locais de realização do Estudo.

Foram recrutados pacientes dos seguintes hospitais:

- Hospital Estadual Bauru (FMB-UNESP);
- Hospital Universitário João de Barros Barreto (UFPA);
- Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

3. Braços terapêuticos avaliados.

Os pacientes foram randomizados eletronicamente e alocados em um de três braços terapêuticos:

- **Braço 1:** Pacientes tratados com o antimoniato de N-metil glucamina, na dose de 20mg/kg/dia (máximo 1415mg), por 30 dias.
- **Braço 2:** Pacientes tratados com o deoxicolato de anfotericina B, na dose de 1mg/kg/dia, por 20 dias.
- **Braço 3:** Pacientes tratados com anfotericina lipossomal, na dose de 5mg/kg/dia, por 5 dias.

As doses administradas, foram as recomendadas pela OMS e publicadas no guia do Ministério da saúde, pelo tempo médio previsto na recomendação.^{1,2}

Os pacientes foram randomizados no período de abril de 2010 a dezembro de 2012, e acompanhados por um período de seis meses.

4. Seguimento clínico e laboratorial.

Todos os pacientes iniciaram o tratamento em esquema de internação e permaneceram internados pelo menos durante os primeiros cinco dias de tratamento, quando puderam completar o esquema em hospital-dia ou em ambulatório, se seu quadro clínico assim permitisse. As avaliações clínicas/laboratoriais foram realizadas nos dias: 0, 3, 7, 14, 30, 90 e 180. Foram realizadas outras avaliações sempre que necessário.

4.1. Avaliações realizadas.

4.1.1. Avaliação clínica.

Os pacientes foram acompanhados clinicamente com ênfase nos parâmetros usuais de evolução da doença: febre, hepatomegalia, esplenomegalia, manifestações hemorrágicas e outros sintomas/sinais característicos da LVA, de infecções secundárias, intercorrências e/ou toxicidade terapêutica. O peso dos pacientes foi avaliado no momento “0” e em todas as visitas posteriores. As avaliações clínicas foram complementadas pela coleta de exames laboratoriais (ver a seguir) e foram realizadas nas visitas previstas e em outras datas, quando se fizer necessário.

4.1.2. Avaliação dos eventos adversos.

Ao longo do tratamento, foi avaliada a ocorrência de eventos adversos das medicações utilizadas. Assim, nos dias das visitas acima especificadas, foi investigada clínica e laboratorialmente a ocorrência de toxicidade cardíaca, renal, pancreática e hematológica, entre outras. A definição dos eventos adversos é apresentada adiante.

4.1.3. Avaliação laboratorial.

Nos dias programados para visitas (e em outras datas, quando necessário), foram coletados os seguintes exames: hemograma completo, tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), dosagem sérica de enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina e gama glutamil transferase), amilase sérica, provas de função renal (uréia e creatinina séricas), proteína C reativa (PCR),

eletroforese de proteínas e eletrocardiograma. No primeiro dia de visita também foi coletada sorologia para pesquisa de HIV e beta-HCG, que definem critérios de exclusão.

5. Seleção da População do Estudo.

O estudo foi multicêntrico, incluiu pacientes procedentes e/ou atendidos em serviços de saúde nos Estados do Maranhão, Pará e São Paulo.

5.1. Critérios de Inclusão.

Foram incluídos no estudo pacientes com os seguintes requisitos:

- Diagnóstico de LVA por um dos seguintes métodos:
 - (a) Observação de *Leishmania* em aspirado de medula óssea ou esplênico;
 - (b) Crescimento de *Leishmania* em cultura de aspirados da medula óssea e/ou esplênico.
- Sem história de tratamento anterior para LVA.
- Sem diagnóstico de Aids ou outra condição de imunossupressão grave.

5.2. Critérios de Exclusão.

Foram excluídos do estudo os pacientes com as seguintes características:

- Antecedente de tratamento para LVA (inclusive falhas terapêuticas e recidivas).
- Indivíduos soropositivos para o HIV.
- Portadores de neoplasias hematológicas.

- Pacientes submetidos à quimioterapia, corticoterapia ou outro esquema de imunossupressão nos últimos 12 meses.
- Pacientes que tenham indicação de uso de deoxicolato de anfotericina B ou de anfotericina B lipossomal pelo protocolo do Ministério da Saúde ou do Estado de São Paulo - da Secretaria de Estado da Saúde (ver item 3.3.3).
- Pacientes com cardiopatias conhecidas previamente ou identificadas no exame físico e/ou em eletrocardiograma realizados antes da introdução do tratamento.

5.3. Outras considerações sobre Inclusão/Exclusão.

O documento do Ministério da Saúde (2006) intitulado Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas,⁶¹ preconiza o uso do deoxicolato de anfotericina B para crianças com idade inferior a 6 meses, adultos com mais de 65 anos, desnutrição grave, e indivíduos com co-morbidades, incluindo infecções bacterianas ou uma das seguintes manifestações clínicas: icterícia, fenômenos hemorrágicos (exceto epistaxe), edema generalizado, sinais de toxemia (letargia, má perfusão, cianose, taquicardia ou bradicardia, hipoventilação ou hiperventilação e instabilidade hemodinâmica). Além disso, o mesmo documento indica o uso da anfotericina B lipossomal para transplantados e pacientes graves com insuficiência renal.

O Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo (2006)², indica o uso rotineiro de anfotericina lipossomal para:

- (a) Pacientes com idade até 10 anos ou a partir de 50 anos;
- (b) Co-infecção Aids-LVA;
- (c) Portadores de Neoplasias hematológicas;
- (d) Transplantados;
- (e) Pacientes em terapia imunossupressora;
- (f) Gestantes;
- (h) Falhas terapêuticas e recidivas;
- (i) Indivíduos com contra-indicação de outras opções terapêuticas.

Não foram incluídos na randomização indivíduos para os quais, em normas governamentais, estivessem claramente indicados ao uso de deoxicolato de anfotericina B ou da formulação lipossomal. Assim sendo, e levando em consideração as indicações dos documentos governamentais, os casos foram incluídos no estudo conforme tabela a seguir (Tabela 1):

Tabela 1- Consideração às indicações dos documentos governamentais.

Idade	Maranhão	Pará	São Paulo
<6 meses	Não	Não	Não
6 meses- 10 anos	Sim	Sim	Não
11 anos- 49 anos	Sim	Sim	Sim
50- 64 anos	Sim	Sim	Não
≥65 anos	Não	Não	Não

A razão para esse procedimento foi manter o esquema considerado mais adequado e disponível no SUS, das regiões onde os pacientes são atendidos. Isso nos pareceu um preceito ético inquestionável.

6. Randomização.

Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão, foram convidados a participar do estudo e orientados sobre o mesmo, sobre os tratamentos e seus possíveis efeitos colaterais, tipo de administração e tempo total de medicação e seguimento previstos. Apresentou-se o TCLE (apêndice I), o qual foi lido com o paciente e por ele, sendo sanadas as dúvidas pertinentes. Após aceite e assinatura do termo, procedeu-se a randomização.

Após acesso da ficha clínica *online* (ver a seguir), foram inseridos os dados do paciente. No dia da visita número zero era possível verificar a medicação para a qual ele foi randomizado. Informou-se ao paciente a medicação selecionada e em seguida iniciada a medicação.

7. **Ficha clínica *online*.**

Com auxílio do Núcleo de Educação à Distância (NEAD) da Faculdade de Medicina de Botucatu, criou-se uma ficha clínica *online*, na qual era possível cadastrar, randomizar e realizar todo o acompanhamento dos pacientes randomizados. A ficha permitiu a anotação dos dias de visita, exames laboratoriais de diagnóstico e de seguimento, além de informações quanto as finalizações. A intenção de manter uma página *online* para o seguimento e randomização, pretendeu facilitar o andamento nos centros distantes da coordenação, bem como o controle dos mesmos, por parte do centro coordenador. As páginas da ficha contemplam cada período de avaliação, conforme descrito a seguir (ver também apêndices II, III e IV):

- **Ficha de acesso (apêndice II):**

A página inicial exige *login* e senha, com acesso permitido somente para pessoas cadastradas pelo administrador e devidamente autorizadas pela coordenação do projeto.

- **Ficha de Identificação, Randomização e Avaliação Clínica (apêndice III):**

Esta página pretende identificar cada participante e o grupo ao qual foi randomizado com segurança, mantendo campos das visitas em fácil acesso aos dias de visita, para edição e inserção de dados.

- **Ficha de finalização (apêndice IV):**

Contém as opções de desfecho previstas.

8. Avaliação da eficácia.

O Estudo abordou os principais desfechos relacionados à eficácia. Foram de especial interesse os seguintes:

- **Cura:** Ausência de sintomas, após os 180 dias de seguimento.
- **Resposta no 30º dia:** Ausência de sintomas e normalização de parâmetros laboratoriais no 30º dia de seguimento.

Outros desfechos foram definidos a partir dos especificados acima. Assim, “falha” foi definida como a piora progressiva ou ausência de resposta em 30 dias. “Recidiva” foi definida como o reaparecimento dos sintomas em período inferior a 180 dias.

9. Avaliação da segurança.

O estudo abordou os principais aspectos relacionados à segurança. Os “eventos adversos” e sua gravidade foram definidos conforme documento da *Division of Aids table for grading the severity of adult and pediatric adverse events* (ver item 3.7.1)⁶¹, priorizando-se para análise, os relacionados a toxicidade cardíaca, renal, hepática, pancreática e medular, definidos a seguir:

- **Toxicidade cardíaca:** definida pelo surgimento de alterações de traçado no Eletrocardiograma, incluindo distúrbios do ritmo, sinais de isquemia ou alterações de repolarização, acompanhados ou não de sintomas/sinais clínicos (palpitações e precordialgia, entre outros);
- **Nefrotoxicidade:** definida laboratorialmente pela elevação dos níveis de Creatinina e/ou Uréia séricas acima dos limites da normalidade.

- **Hepatotoxicidade:** definida laboratorialmente pela elevação dos níveis séricos de enzimas hepáticas (AST, ALT, FA e gama-GT) ou alteração do coagulograma (TP e TTPA), e/ou clinicamente, pela presença de sinais/sintomas de insuficiência hepática;
- **Toxicidade pancreática:** definida laboratorialmente pela elevação dos níveis séricos de Amilase e/ou clinicamente pela presença de sinais/sintomas compatíveis.
- **Mielotoxicidade:** definida pela redução de parâmetros hematológicos (hemoglobina, contagem de leucócitos ou contagem de plaquetas) em proporção superior a 20% após a introdução do tratamento, na ausência de outros sinais/sintomas sugestivos de falha terapêutica.

9.1. Classificação da Intensidade/Gravidade do Evento Adverso

Os Eventos Adversos são classificados quanto à gravidade, em quatro níveis:

- **Grau I:** Os sintomas causam mínima ou não causam nenhuma interferência nos hábitos sociais e atividades funcionais do indivíduo;
- **Grau II:** Os sintomas causam maior que o mínimo de interferência nos hábitos sociais e atividades funcionais do indivíduo;
- **Grau III:** Os sintomas causam incapacidade de realizar hábitos sociais e atividades funcionais;
- **Grau IV:** Os sintomas causam incapacidade para executar funções básicas funções de auto-cuidado ou indica intervenção médico para evitar permanente prejuízo, persistente invalidez ou morte.

9.2. Relação causal do evento adverso.

Todos os eventos foram investigados quanto à relação causal, sendo atribuídos ao medicamento em uso quando:

(a) tiverem início ou apresentaram grande piora após a introdução do tratamento;

(b) não foram justificados pela doença de base ou por qualquer intercorrência clínica.

9.3. Monitorização dos eventos adversos.

Os eventos adversos foram monitorados ao longo de todo o tratamento e nos dias seguintes. Para tanto, foram realizadas avaliações clínicas e laboratoriais nos dias de visita e em outros momentos, quando necessário. Pacientes foram retirados do estudo e tiveram seu esquema terapêutico alterado sempre que:

(a) Apresentaram toxicidade cardíaca, em qualquer grau de repercussão clínica;

(b) Apresentaram outro tipo de toxicidade, em grau III e IV.

10. Análise estatística.

A análise estatística foi aplicada aos desfechos, à evolução de parâmetros clínicos e laboratoriais (ex.: hemoglobina, contagem de plaquetas) nas diversas visitas, e aos eventos adversos.

Foram considerados “curados” todos aqueles pacientes que, ao final de 180 dias de seguimento, não apresentaram sinais e sintomas compatíveis com LVA. “Falhas terapêuticas” foram definidas como ausência de melhora clínica e laboratorial ao longo do tratamento, enquanto “recidivas” foram definidas como resposta clínica observada nas primeiras avaliações (até dia 30), com retorno dos sinais/sintomas posteriormente.

Dados como “cura”, “falha” e “recidiva” foram estudados como variáveis binomiais. A toxicidade (para cada órgão e sistema específico) foi avaliada tanto como variável “binomial” quanto como variável “ordinal” (escala de gravidade). Outros dados (peso, parâmetros laboratoriais) foram avaliados como medidas numéricas, através de testes não paramétricos.

Todos os grupos serão comparados entre si e em relação ao grupo recebendo antimoníato de meglumina. Foram utilizados nesse procedimento os testes de Kruskal-Wallis, Chi-quadrado e Exato de Fischer. Para avaliação dos parâmetros numéricos e/ou ordinais utilizamos os testes de Mann-Whitney e Wilcoxon. Para avaliação do tempo até normalização dos exames laboratoriais, utilizamos análise de sobrevida, com curvas de Kaplan Meier e teste de LogRank. Em todos os casos, as análises foram bi-caudais, com limite de significância de 5% ($P < 0,05$).

11. Procedimentos éticos.

11.1. Comitê de Ética em Pesquisa.

O projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa de todas as instituições participantes, para avaliação.

11.2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice I).

Tratando-se de Ensaio Clínico, de natureza prospectiva, os pacientes foram incluídos voluntariamente no estudo, mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido conforme estabelecido pela Resolução 196/96.

11.3. Riscos e Benefícios.

A avaliação de Riscos e Benefícios foi constante ao longo de todo o estudo. De pronto, não serão incluídos aqueles pacientes para os quais, em documentos governamentais, sugere-se uso preferencial de deoxicolato de anfotericina B ou anfotericina lipossomal, conforme especificado no item 3.3.3. Além disso, há rigorosa monitorização dos eventos adversos. Enfatizamos que braços do Estudo

poderiam ser interrompidos caso fossem observados eventos adversos graves com grande frequência.

11.4. Monitorização do Estudo.

Em cada centro participante havia um investigador (“Monitor”) responsável pela revisão periódica dos dados coletados. Cabia a esse Monitor a fiscalização da correta aplicação dos protocolos aos braços do Estudo.

11.5. Confidencialidade do Paciente.

Em concordância com as boas práticas de Pesquisa Clínica, explicitadas na resolução 196/96, foi garantida estrita confidencialidade a todos os pacientes participantes da pesquisa. A confidencialidade está explícita no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.8.6- Identificação e acompanhamento dos voluntários.

Os pacientes/voluntários foram identificados entre aqueles indivíduos encaminhados aos Serviços de Saúde envolvidos no Estudo. Após o diagnóstico parasitológico da LVA, os pacientes foram convidados a participar do Estudo, sendo a eles apresentado o TCLE, conforme descrito no item 3.4.

3.8.6- Coleta e envio de material biológico.

Os exames laboratoriais para diagnóstico e acompanhamento dos pacientes do Estudo foram obtidos seguindo as boas práticas de coleta e processados/analizados no laboratório de referência da Unidade de Pesquisa participante. Lâminas de aspirado de medula óssea permaneceram estocadas até o final da pesquisa. Todo o procedimento de transporte a armazenamento seguiu normas estritas de biossegurança. A informação sobre o armazenamento do material está contida no TCLE apresentado a todos os pacientes (voluntários) da pesquisa.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Randomização e análise de homogeneidade.

Foram randomizados 59 pacientes, nos serviços de Bauru-SP (24 pacientes); Pará (18 pacientes) e Maranhão (17 pacientes). Entretanto, apenas 33 pacientes tiveram o seguimento finalizado. 29 pacientes completaram 180 dias de seguimento e obtiveram cura. 01 paciente caracterizou falha terapêutica; 01 apresentou recidiva e houve 02 óbitos. 26 pacientes perderam seguimento antes de 180 dias, mas 05 apresentaram eventos adversos e a medicação foi suspensa antes da perda de seguimento. Entre os 59 pacientes randomizados, 42 completaram 30 dias de seguimento (**Tabela 2**).

Tabela 2- Pacientes randomizados e totalização do seguimento.

	TOTAL	*	**
Total Randomizado	59	100,0%	-
Seguimento finalizado:	33	55,9%	100%
• Alta no D180	29	49,1%	87,9%
• Falha	01	1,7%	3%
• Recidiva	01	1,7%	3%
• Óbito	02	3,4%	6%
Perda seguimento:	26	44,1%	78,8%
• Após evento adverso	05	8,5%	15,1%
• Sem evento adverso	21	35,6%	63,6%
Seguimento até D30	42	71,2%	-
* Percentual em relação ao total de pacientes randomizados.			
** Percentual em relação aos que finalizaram seguimento.			

Na análise de homogeneidade dos pacientes alocados entre os braços (**Tabela 3**), observou-se semelhança para a maior parte dos parâmetros demográficos, clínicos e laboratoriais estudados. No entanto, houve diferença de idade, significativa para aqueles alocados no braço de uso do antimonio de N-metil

glucamina. Isso se deveu ao maior número de pacientes randomizados para esse braço no sítio de estudo do Estado de São Paulo, no qual (como se pode ver na metodologia) não eram incluídos menores de 10 anos.

Tabela 3 – Análise de homogeneidade de pacientes alocados nos três braços do estudo.

Características na inclusão	BRAÇO 1(21)	BRAÇO 2 (19)	BRAÇO 3 (19)	p-valor
<i>Sítio de Pesquisa</i>				0,34
Maranhão	5 (29,4%)	5 (29,4%)	7 (41,2%)	
Pará	4 (22,4%)	7 (38,8%)	7 (38,8%)	
São Paulo	12 (50,0%)	7 (29,2%)	5 (20,8%)	
<i>Dados demográficos</i>				
Idade	24 (1-49)	5,5 (1-48)	3 (1-49)	0,02
Sexo Masculino	10 (47,6%)	10 (52,6%)	9 (47,4%)	0,93
<i>Sinais e Sintomas</i>				
Hepatomegalia	17 (80,9%)	17 (89,5%)	16 (84,2%)	0,75
Esplenomegalia	20 (95,2%)	19 (100,0%)	18 (94,7%)	0,61
Febre	21 (100,0%)	19 (100,0%)	19 (100,0%)	1,00
<i>Resultados laboratoriais</i>				
Hemoglobina	8,2 (6,3-15,3)	8,5 (6,9-10,9)	8,5 (6,8-11,9)	0,85
Leucócitos (x1.000)	2,62 (1,02-6,15)	3,30 (0,27-8,27)	4,04 (1,00-10,09)	0,23
Plaquetas (x10.000)	8,62 (2,52-24,20)	10,45 (28,6-20,60)	7,35 (8,10-25,70)	0,82
Albumina (mg/dl)	2,7 (1,7-4,0)	2,8 (1,5-3,2)	2,9 (1,7-3,9)	0,71

Obs.: Dados são expressos em número (percentagem) para variáveis dicotômicas e mediana (variação) para variáveis numéricas. BRAÇO 1: antimoníato de N-metil glucamina; BRAÇO 2: deoxicolato anfotericina B; BRAÇO 3: anfotericina lipossomal.

2. Avaliação da eficácia.

A análise da eficácia foi realizada em relação à cura e normalização dos exames laboratoriais. A avaliação em relação à cura foi realizada tanto nos 33 sujeitos que finalizaram o seguimento, quanto, por análise Tempo-Evento, em todos os 59 sujeitos incluídos no estudo.

Na análise em relação à normalização dos parâmetros laboratoriais, foram incluídos os 42 indivíduos que completaram 30 dias de seguimento. Na análise tempo Tempo-Evento, para este parâmetro todos os pacientes foram incluídos.

Ainda na avaliação da eficácia, observou-se a normalização do hemograma em 30 dias de tratamento, percebe-se diferença percentual, sem significância estatística entre antimoniato de N-metil glucamina e deoxicolato anfotericina B (Figura 1).

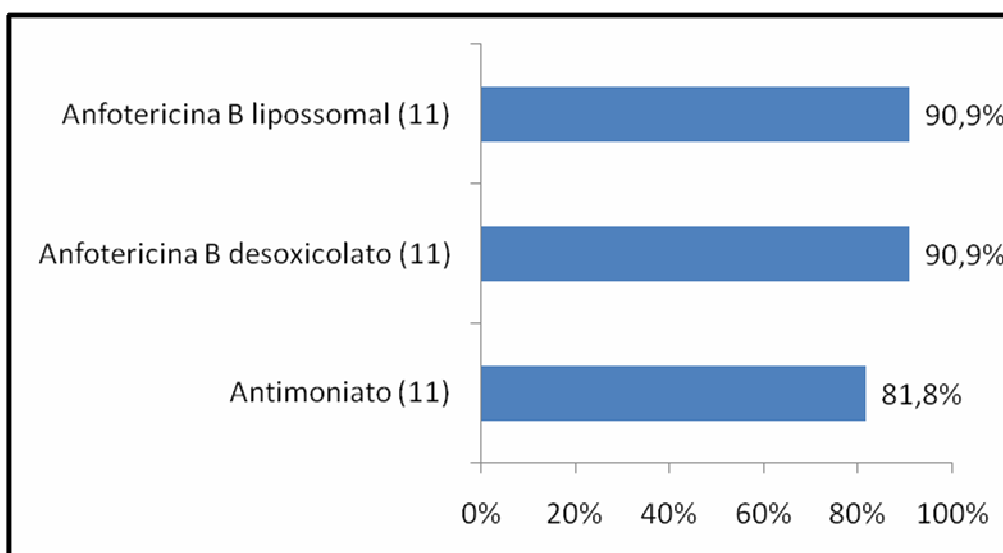


Figura 1. Proporção de cura entre os pacientes que finalizaram seguimento.

Entretanto entre a formulação lipossomal da anfotericina e o antimoniato de N-metil glucamina, há diferença percentual e estatística significativas, favorável a primeira (**Figura 2**).

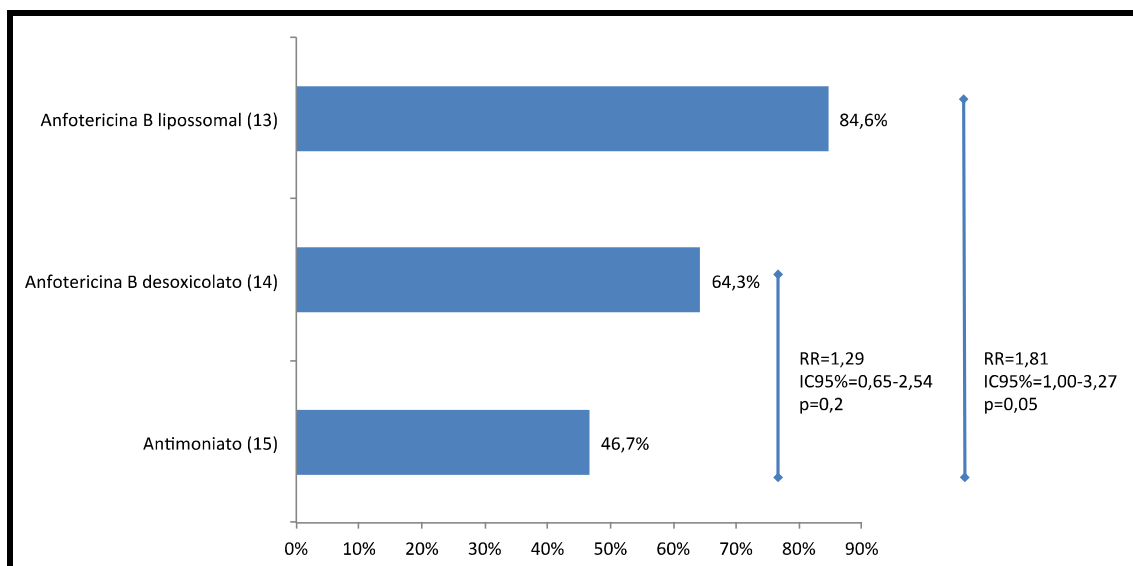


Figura 2. Normalização do hemograma em 30 dias (incluídos na análise somente pacientes com hemograma inicialmente alterado e que completaram 30 dias de seguimento).

Ainda em relação à eficácia, realizamos análises de Tempo-Evento até normalização dos parâmetros laboratoriais mais relevantes. Para o tempo de normalização de hemoglobina, percebemos uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,02$), na comparação entre a anfotericina lipossomal *versus* desoxicolato de anfotericina e antimoniato de N-metil glucamina, quando avaliados conjuntamente. Quando a mesma análise foi realizada comparando-se as duas formulações de anfotericina agregadas com o antimoniato e na comparação entre todos os braços, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,3$ e $p=0,08$ respectivamente)(**Figura 3**).

Na análise do tempo de normalização de hemoglobina, comparando os braços entre si, houve melhor resposta da anfotericina lipossomal em relação ao antimoniato de N-metil glucamina ($p=0,46$), e ao deoxicolato de anfotericina B ($p=0,05$)(**Figuras 5 e 6**). Na comparação entre deoxicolato de anfotericina B e o antimoniato de N-metil glucamina, não houve diferença estatística ($p=0,97$)(**Figura 4**).

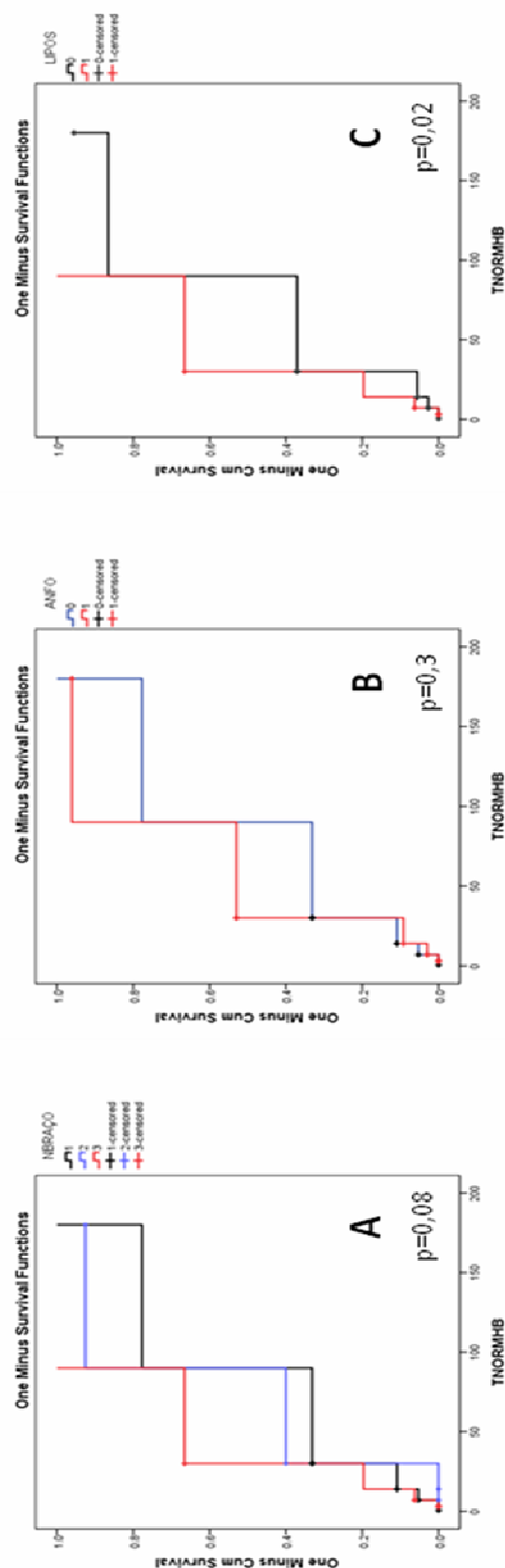


Figura 3. Análise de tempo até normalização de valores de hemoglobina sérica. A: todos os braços comparados; B: Deoxicolato de Anfotericina B em geral versus Glucantime; C: Anfotericina Lipossomal versus demais braços. Estatística: LogRank (Mantel-Cox).

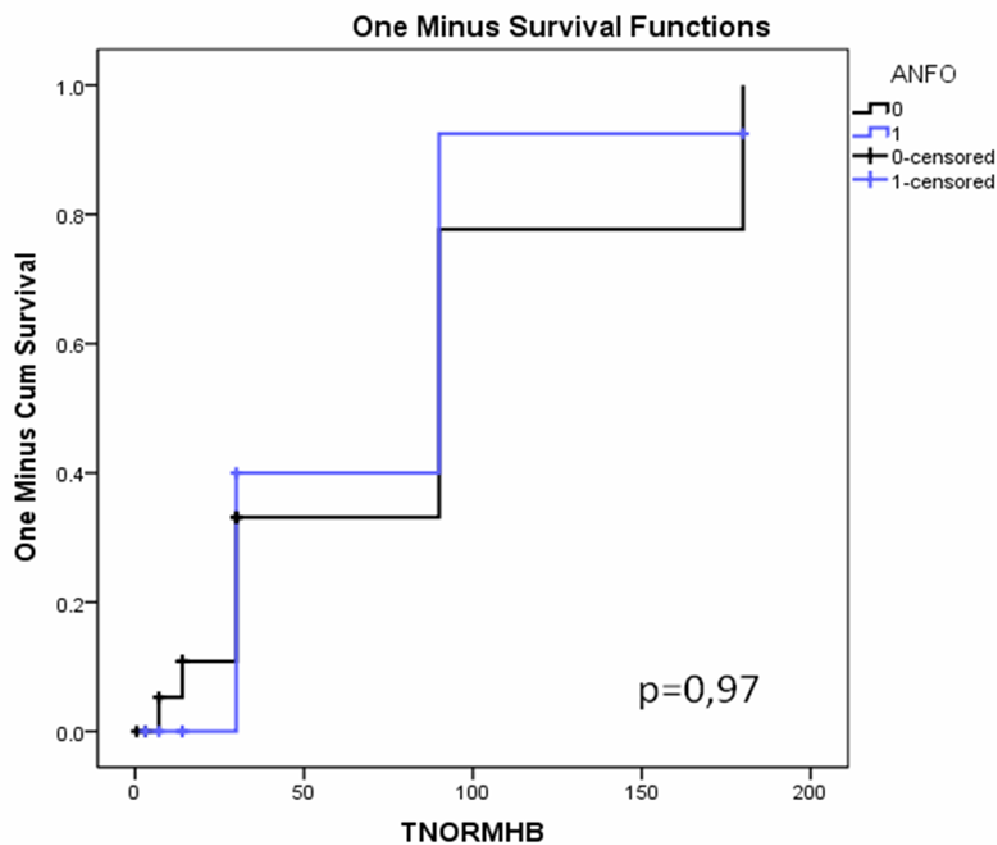


Figura 4: Análise do tempo até normalização dos valores de hemoglobina sérica: Deoxicolato de Anfotericina B X Antimoniato de N-metil glucamina.

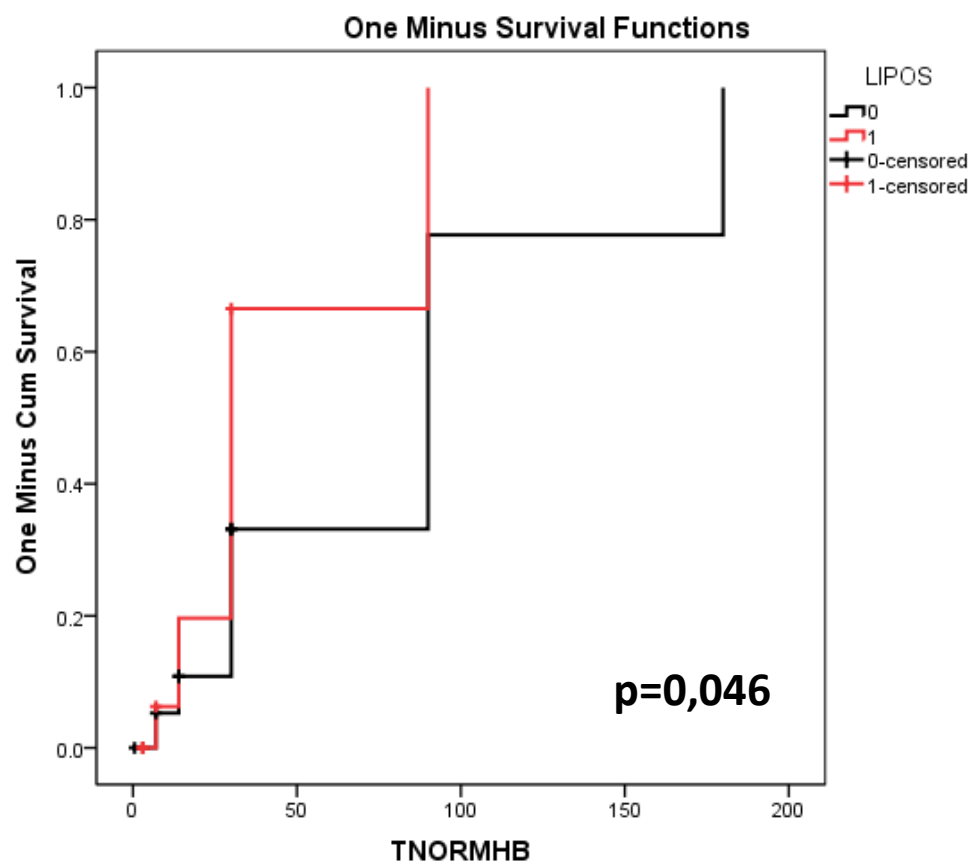


Figura 5: Análise do tempo até normalização dos valores de hemoglobina sérica: Anfotericina B Lipossomal X Antimoniato de N-metil glucamina.

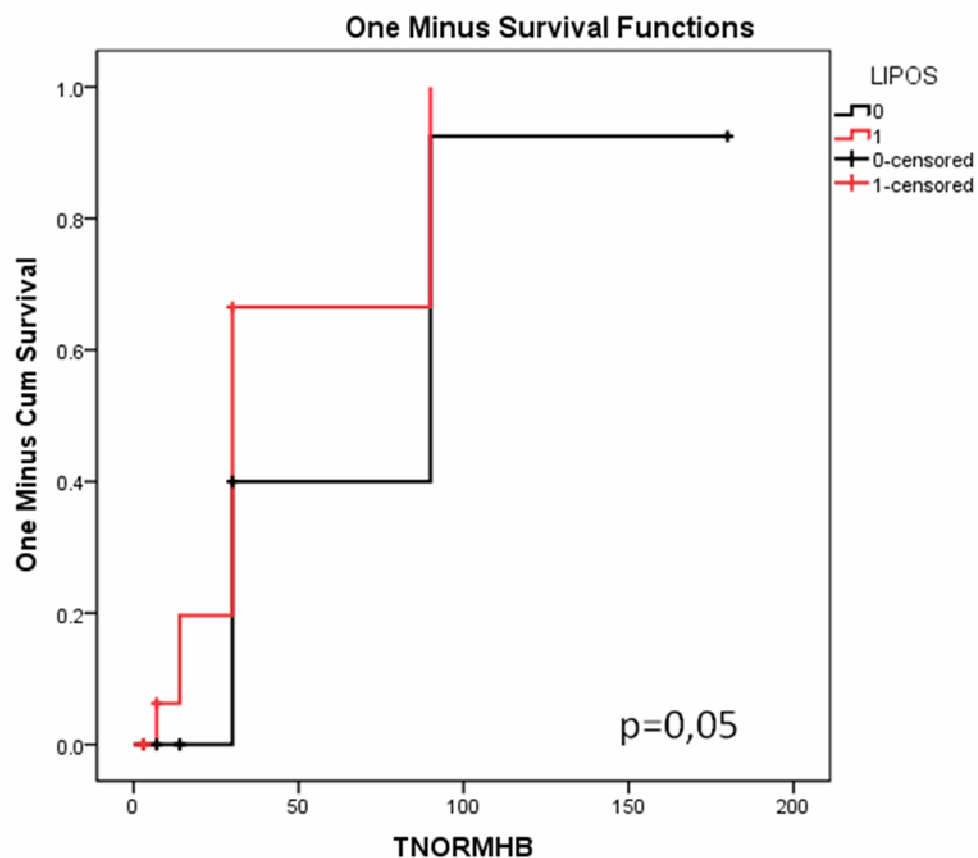


Figura 6: Análise do tempo até normalização dos valores de hemoglobina sérica: Anfotericina B Lipossomal X Deoxicolato de Anfotericina B.

Na análise em relação ao tempo de normalização de leucócitos, percebe-se nítida vantagem da anfotericina lipossomal em relação aos demais, quando todos os braços são comparados ($p=0,001$), na comparação da formulação lipossomal com os demais braços agrupados ($p=0,004$) e individualmente na comparação com o antimoníato de N-metil glucamina, na análise individual ($p=0,001$). Observa-se também significância estatística na comparação das anfotericinas agrupadas em relação ao antimoníato de N-metil glucamina e do deoxicolato de anfotericina B em relação à mesma droga ($p=0,02$). Na comparação individual entre as anfotericinas, não houve significância estatística ($p=0,2$)(**Figuras 7, 8,9 e 10**).

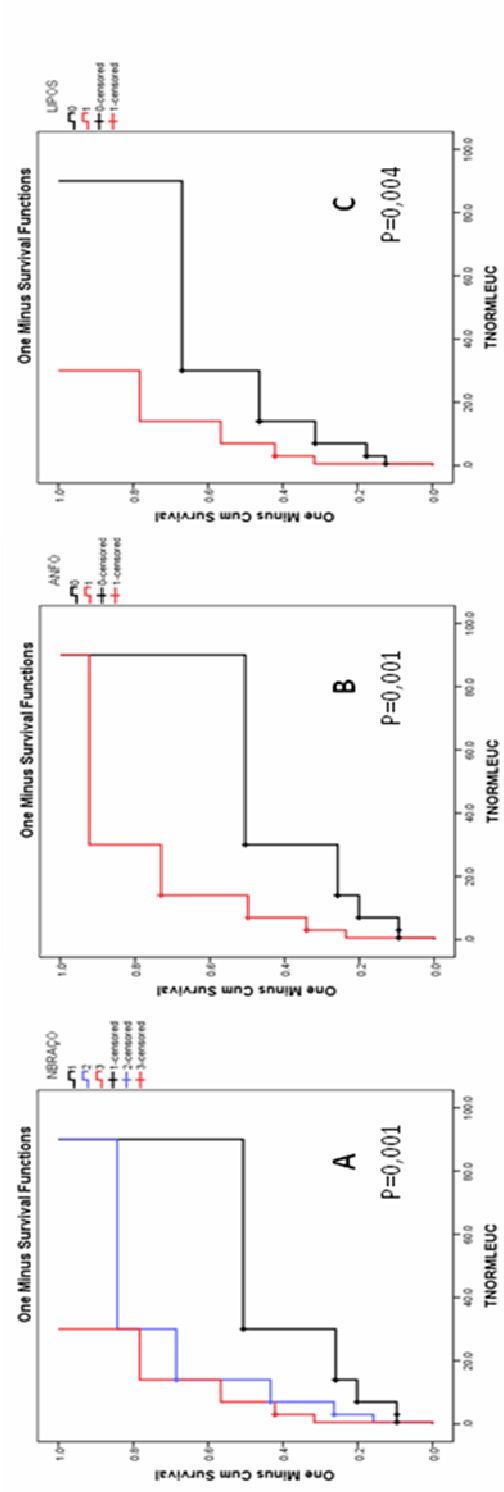


Figura 7. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de leucócitos. A: todos os braços comparados; B: Anfotericina em geral versus Glucantime; C: Anfotericina Lipossomal versus demais braços. Estatística: LogRank (Mantel-Cox).

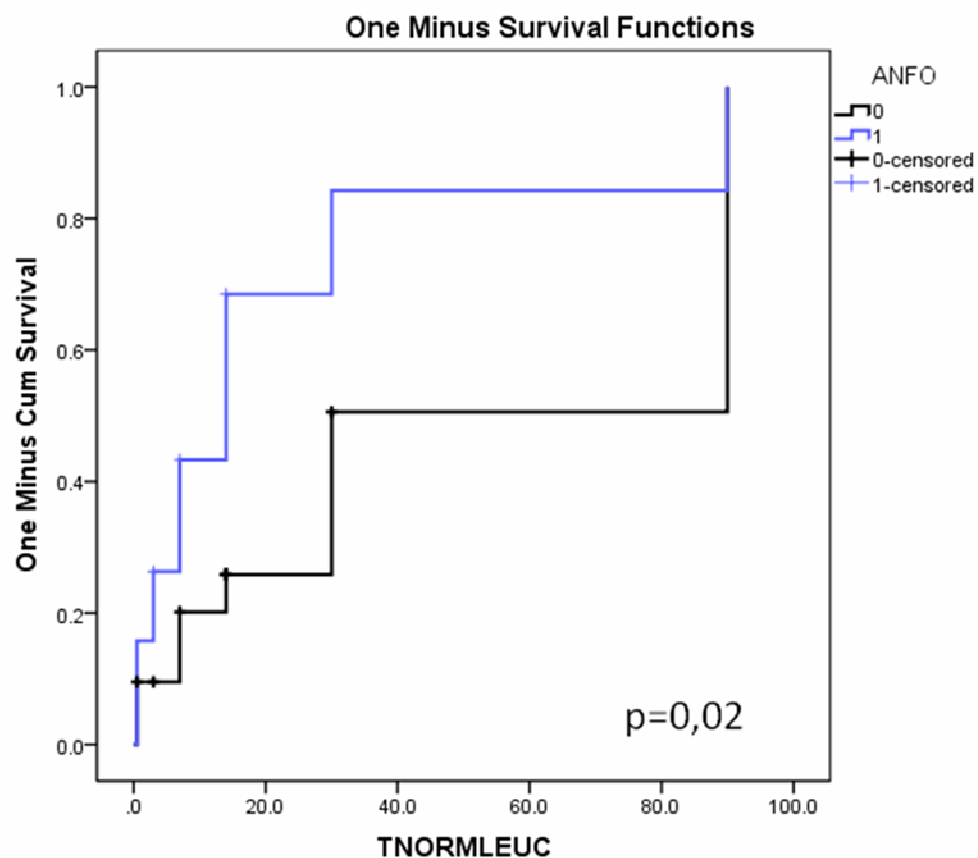


Figura 8. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de leucócitos: Deoxicolato de Anfotericina B X Antimoniato de N-metil glucamina.

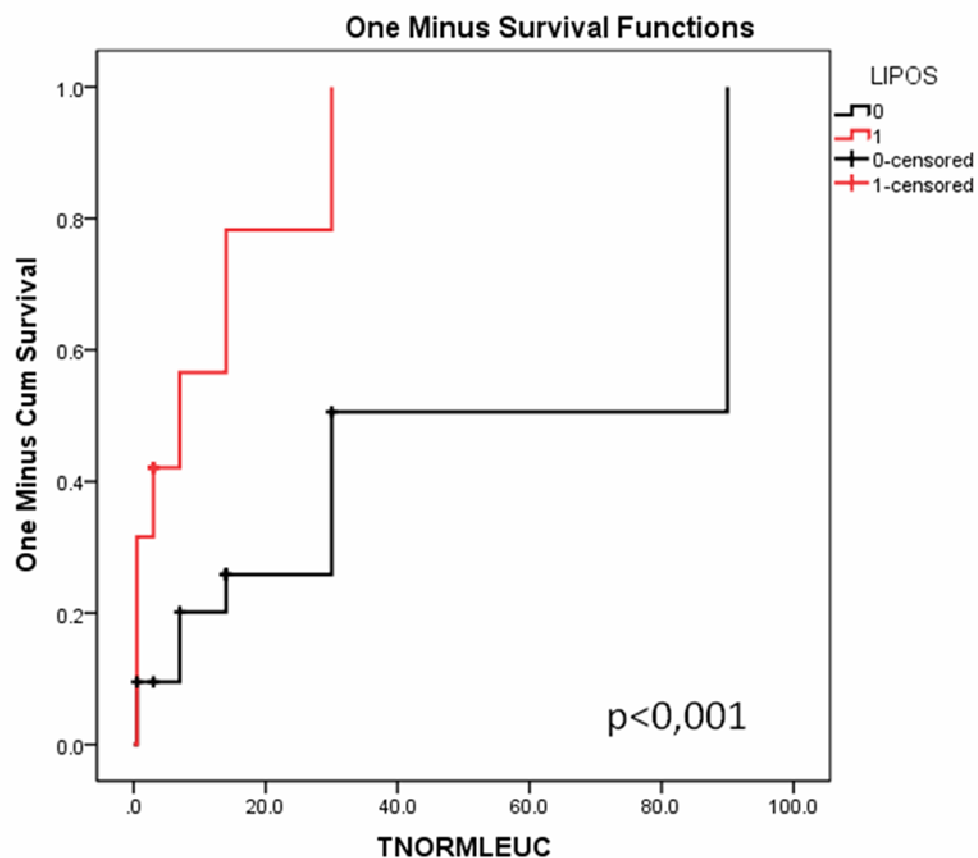


Figura 9. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de leucócitos: Anfotericina B Lipossomal X Antimoniato de N-metil glucamina.

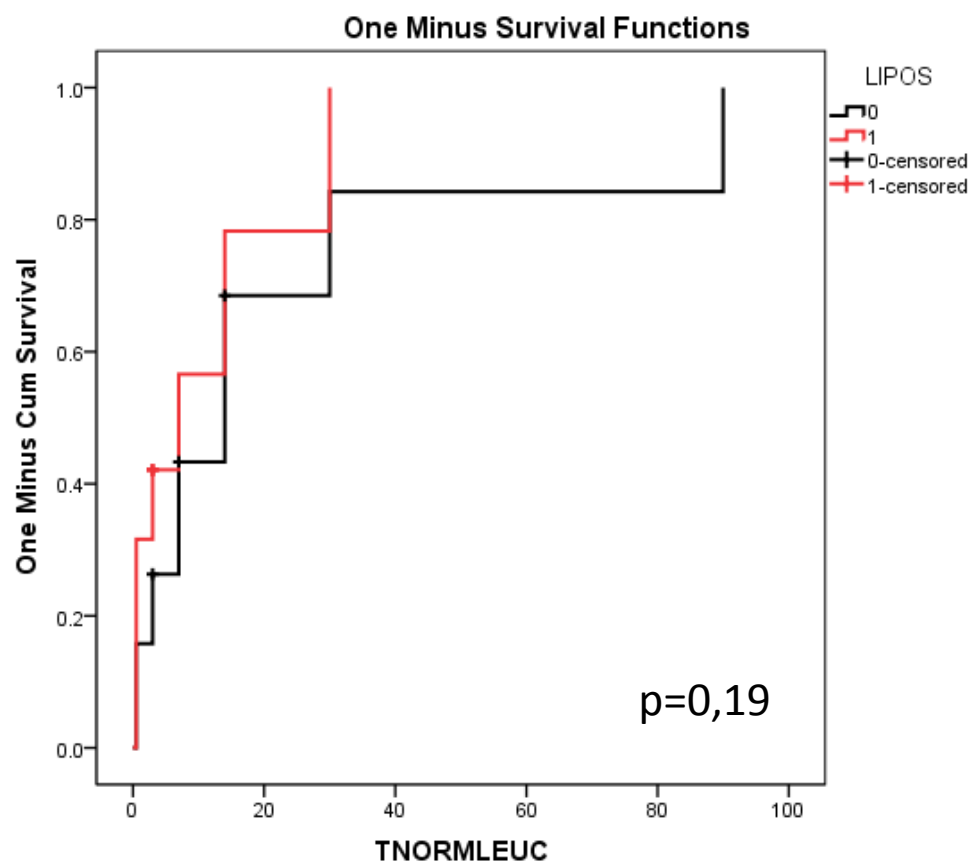


Figura 10. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de leucócitos: Anfotericina B Lipossomal X Deoxicolato de Anfotericina B.

Em relação à análise do tempo de normalização de plaquetas, observou-se melhor desempenho da anfotericina lipossomal, quando comparada conjuntamente com os demais braços ($p=0,02$), e também na comparação desta separadamente em relação aos demais braços agrupados e em relação ao antimoniato de N-metil glucamina e ao deoxicolato de anfotericina B, nas avaliações individuais ($p=0,006$; $p=0,007$ e $p=0,03$ respectivamente). Entretanto na comparação com o antimoniato de N-metil glucamina, quando associada ao deoxicolato de anfotericina B, não há significância estatística (Figuras 11,13 e 14). Não houve diferença estatística na comparação de antimoniato de N-metil glucamina e deoxicolato de anfotericina B no tempo de normalização de plaquetas ($p=0,66$).

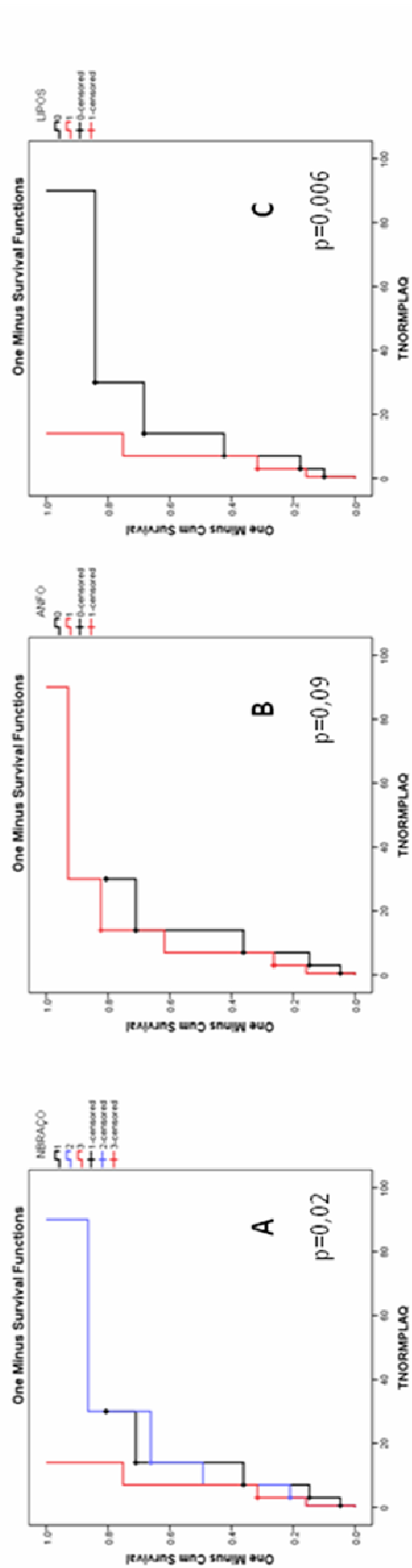


Figura 11. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de plaquetas. A: todos os braços comparados; B: Anfoterina Lipossomal versus Glucantime; C: Anfoterina Lipossomal versus demais braços. Estatística: LogRank (Mantel-Cox).

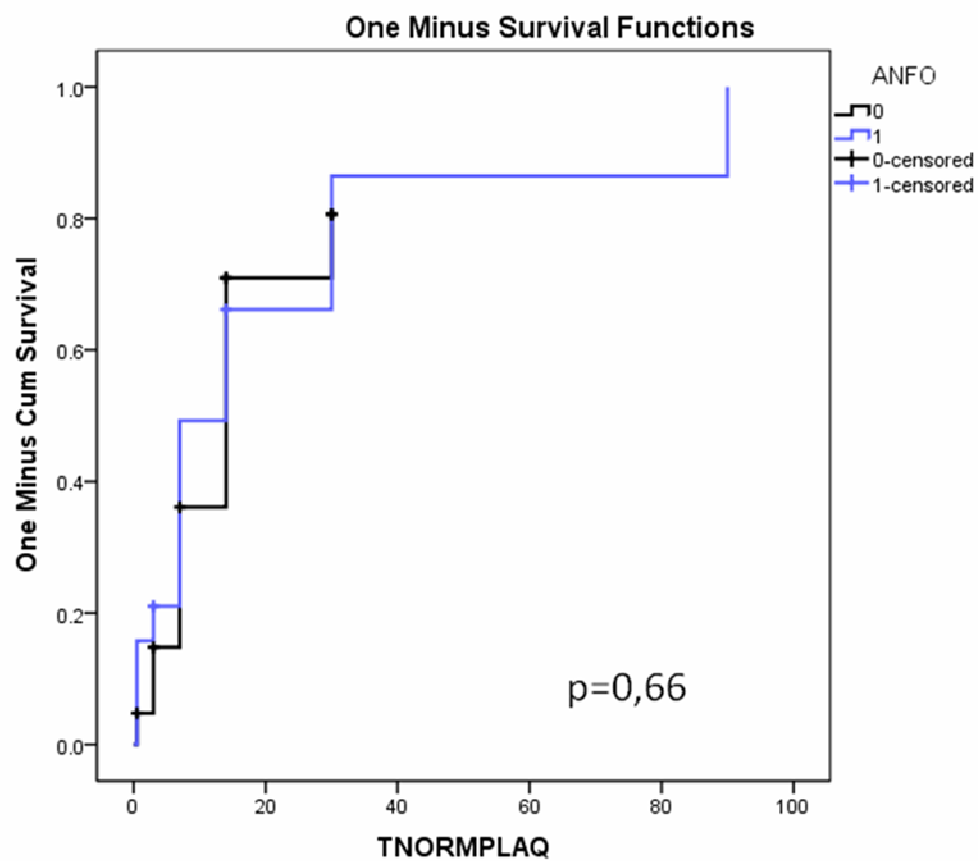


Figura 12. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de plaquetas: Deoxicolato de Anfotericina B X Antimoniato de N-metil glucamina.

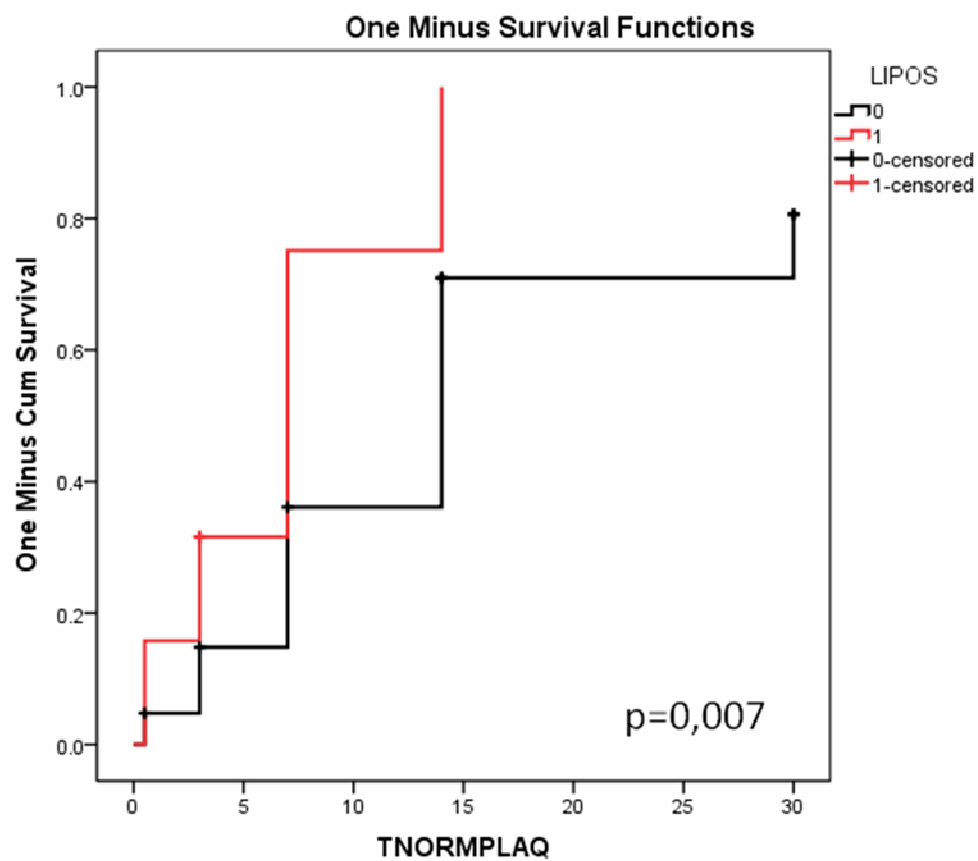


Figura 13. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de plaquetas: Anfotericina B Lipossomal X Antimoniato de N-metil glucamina.

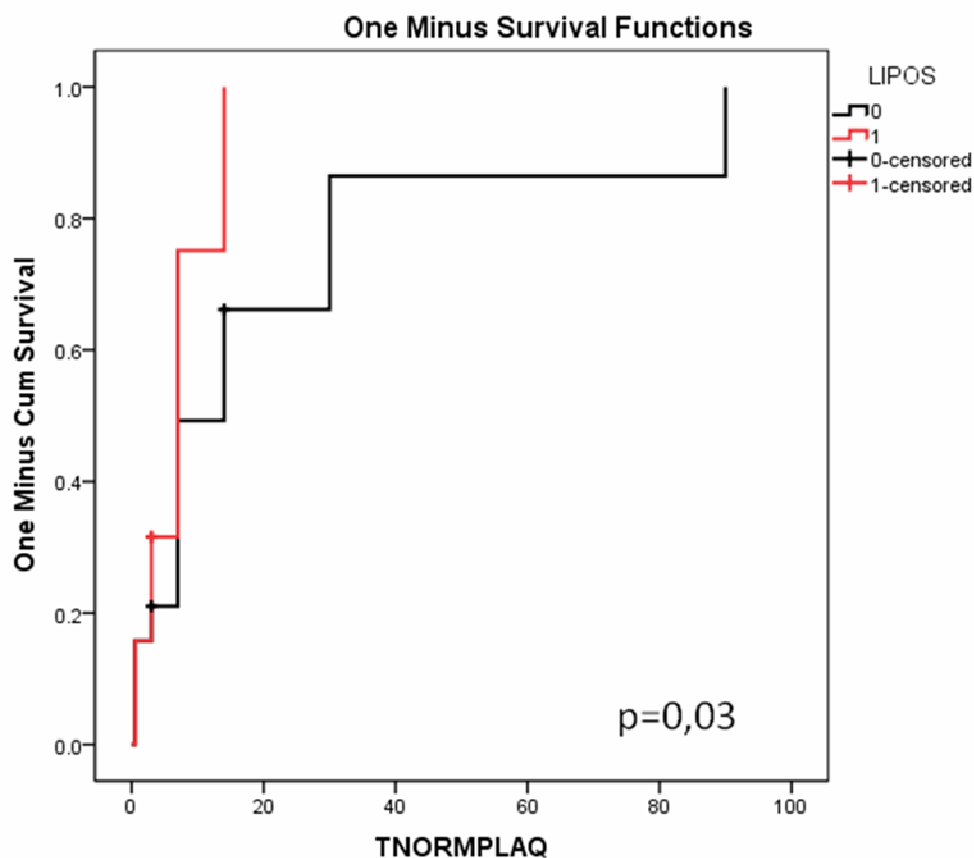


Figura 14. Análise de tempo até normalização de valores de contagem de plaquetas: Anfotericina B Lipossomal X Deoxicolato de Anfotericina B.

Na avaliação de Tempo/Evento para normalização da dosagem sérica de albumina, não houve diferenças estatísticas em nenhuma das análises (**Figuras 15, 16, 17 e 18**).

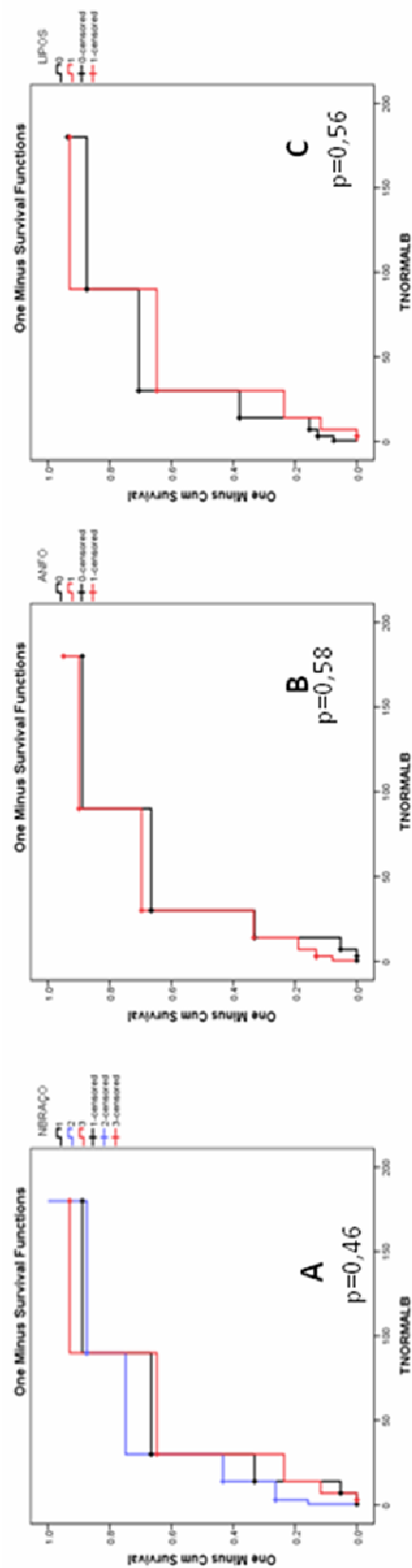


Figura 15. Análise de tempo até normalização de valores de dosagem de albumina sérica. A: todos os braços comparados; B: Anfotericina em geral versus Glucantime; C: Anfotericina Lipossomal versus demais braços. Estatística: LogRank (Mantel-Cox).

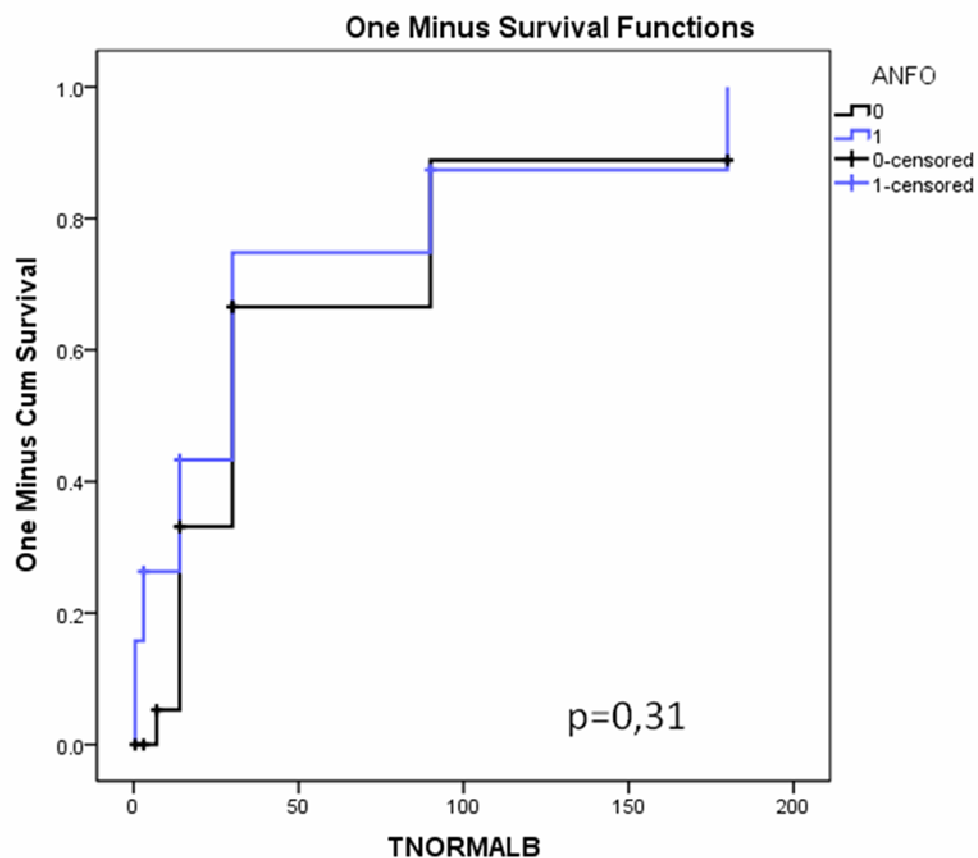


Figura 16. Análise de tempo até normalização de valores de dosagem de albumina sérica: Deoxicolato de Anfotericina B X Antimoniato de N-metil glucamina.

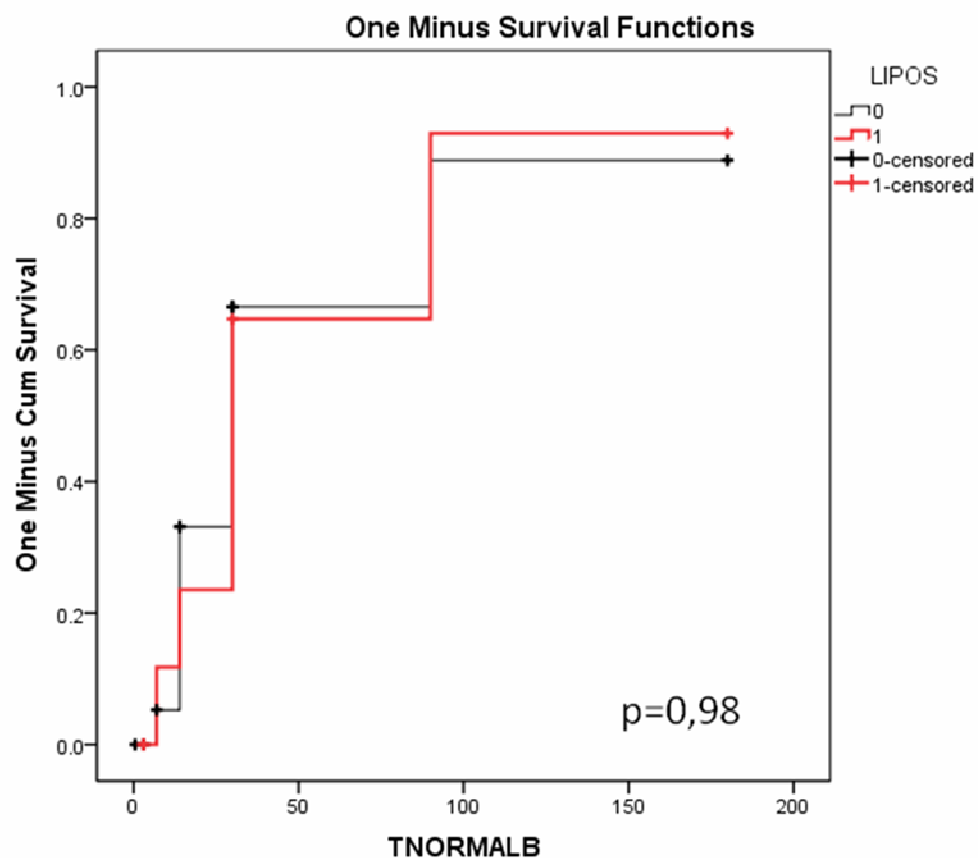


Figura 17. Análise de tempo até normalização de valores de dosagem de albumina sérica: Anfotericina B Lipossomal X Antimoniato de N-metil glucamina.

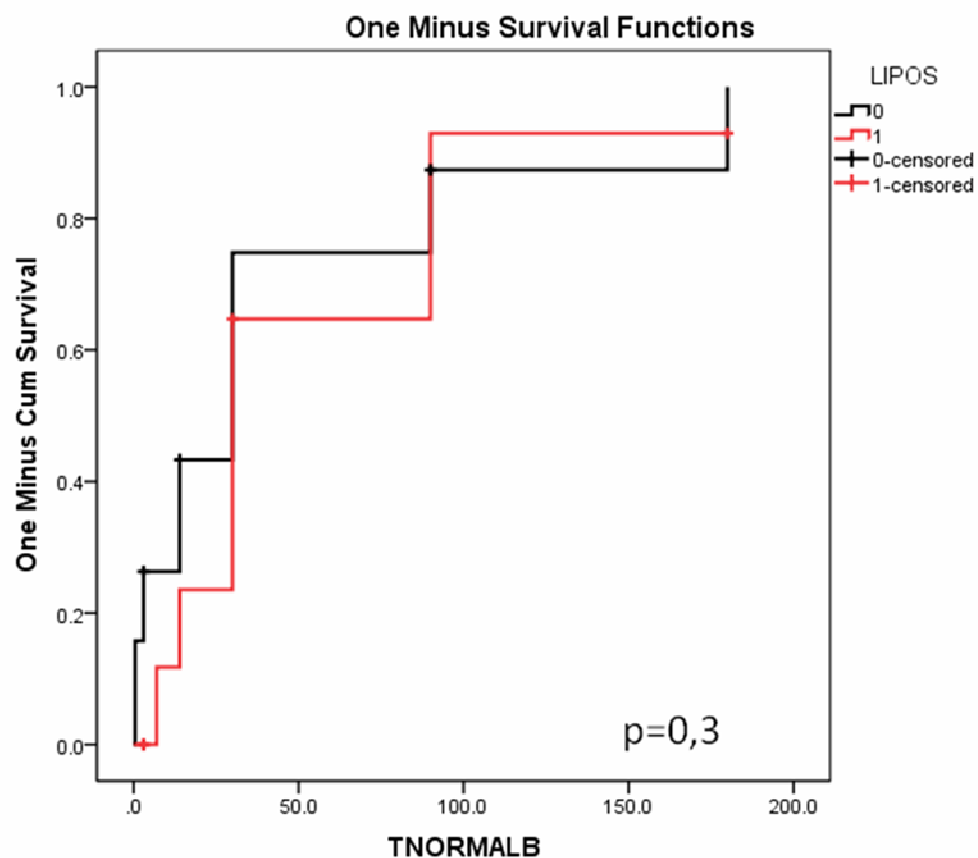


Figura 18. Análise de tempo até normalização de valores de dosagem de albumina sérica: Anfotericina B Lipossomal X Deoxicolato de Anfotericina B.

3. Avaliação da segurança.

Em relação à segurança, foram avaliadas: Toxidade Renal, Hepática, Pancreática e Cardíaca. O período de avaliação considerado, corresponde aos 30 dias posteriores à primeira dose de medicação.

Em relação à Nefrotoxicidade houve diferença estatisticamente significativa entre a desoxicolato anfotericina B em relação ao antimoniato de N-metil glucamina e anfotericina lipossomal, com vantagem estatística e percentual das duas últimas em relação a primeira (**Figura 19**).

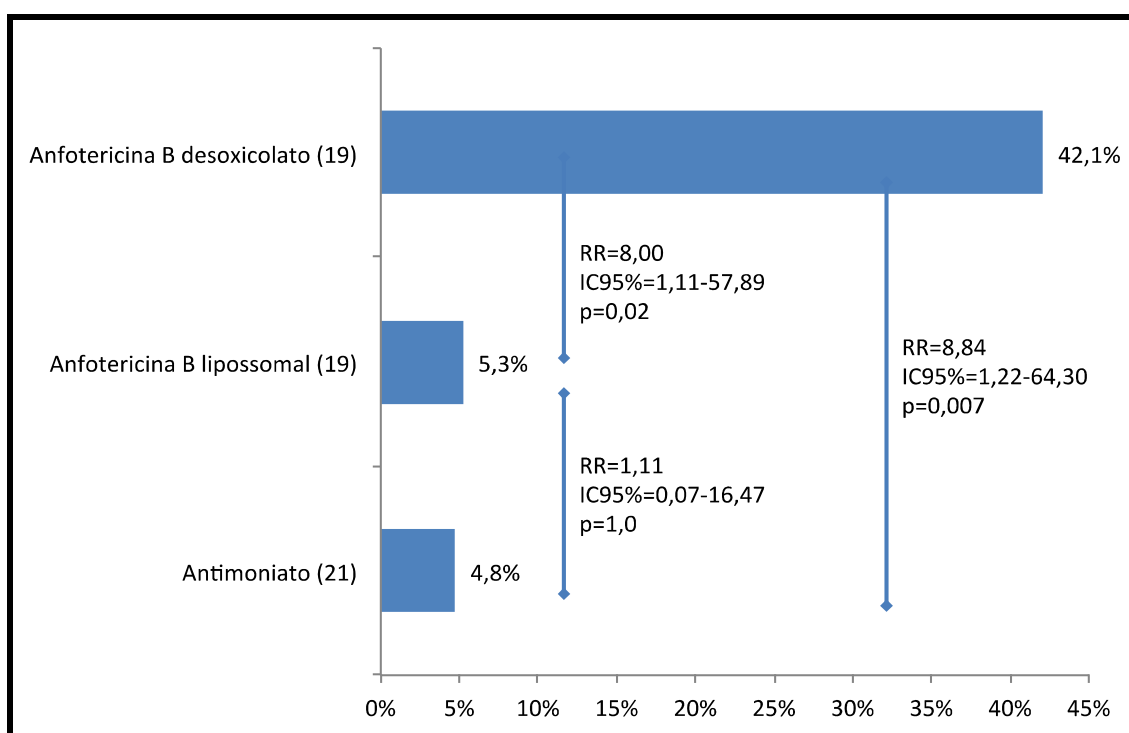


Figura 19. Nefrotoxicidade entre sujeitos incluídos nos braços terapêuticos.

Em relação à Hepatotoxicidade, observou-se maior ocorrência desta nos pacientes tratados com antimoniato de N-metil glucamina, em relação aos tratados com anfotericina, em ambas as formulações (**Figura 20**).

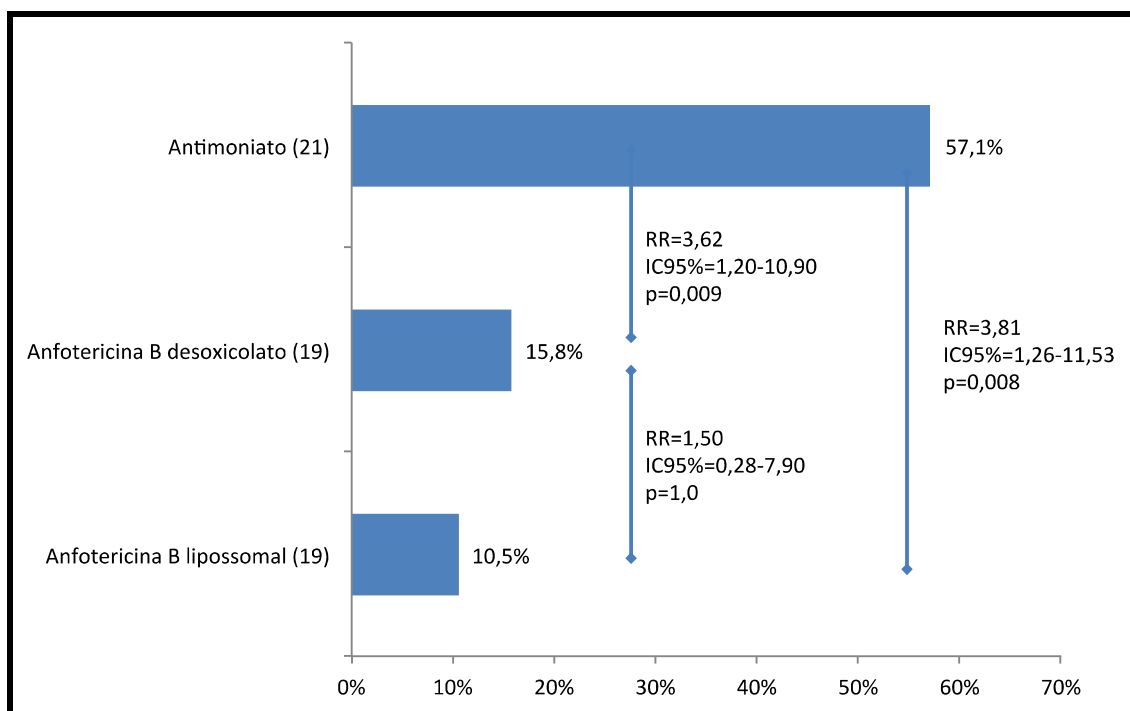


Figura 20. Hepatotoxicidade em sujeitos incluídos nos braços terapêuticos.

Foram avaliadas ainda Cardiotoxicidade (**Figura 21**) e Pancreatotoxicidade (**Figura 22**), em relação à primeira, houve diferença percentual, mas não estatística em relação aos grupos. Em relação à Pancreatotoxicidade, observa-se importante alteração de amilase no grupo do antimoniato de N-metil glucamina, com diferença percentual e estatísticas significantes em relação aos demais grupos.

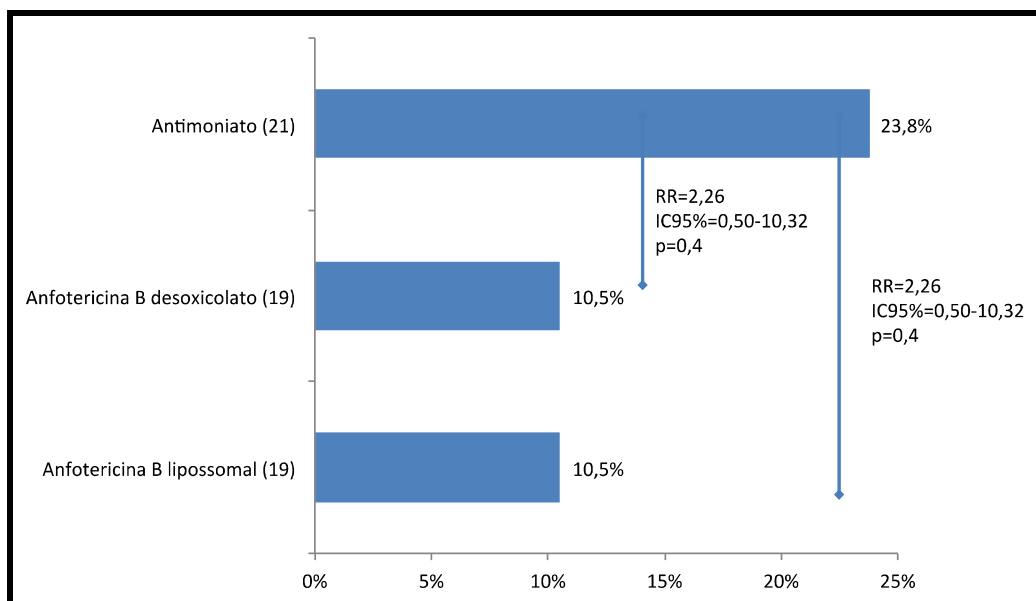


Figura 21. Cardiotoxicidade entre os sujeitos incluídos nos braços terapêuticos.

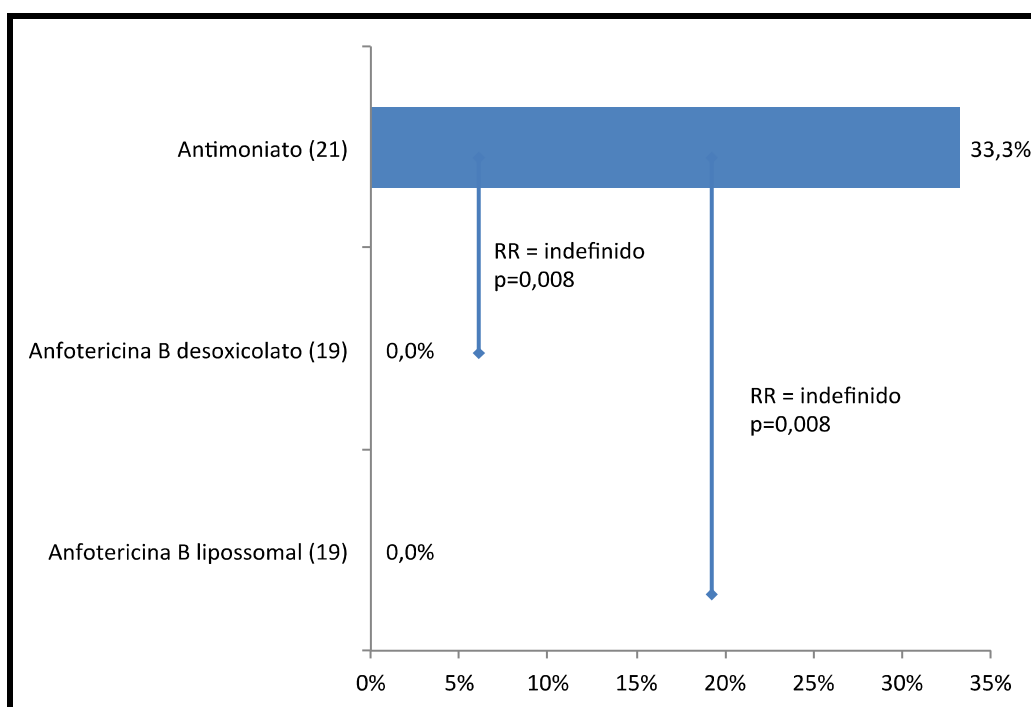


Figura 22. Pancreatotoxicidade entre os sujeitos incluídos nos braços terapêuticos.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Este estudo surgiu como resposta a um edital lançado pelo Ministério da Saúde (por meio da Secretaria de Vigilância em Saúde [SVS] e do Departamento de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos [DECIT]) e Ministério da Ciência e Tecnologia (com intermediação da Financiadora de Estudos e Projetos [FINEP]). O edital, por sua vez, foi gestado em uma conjuntura de crescente interesse no apoio das Avaliações de Tecnologia em Saúde (ATS), ações que buscam reforçar com evidência científica as condutas de assistência praticadas no Sistema Único de Saúde (SUS). O texto publicado no edital solicitava projetos em diversas áreas, incluindo doenças infecciosas e não infecciosas.

A LVA estava em foco no edital, por razões muito pertinentes. Trata-se de uma doença potencialmente letal, cuja área de ocorrência se amplia de forma incessante. Tem tratamento amplamente baseado em tradição e experiência, sem antecedentes de ensaios clínicos. De fato, a maior parte dos estudos randomizados controlados foi realizada na Índia, em países africanos ou na Europa. Por fim, as opções terapêuticas estão longe de oferecer uma relação confortável entre custo, eficácia, segurança e operacionalidade.

Seria simplista afirmar, com base apenas em analogia em relação ao Velho Mundo, a inferioridade dos antimoniais. De fato, a ampla superioridade de anfotericina e miltefosina observada na Índia, se deve à resistência disseminada entre cepas de *L. donovani* naquele país. Essa situação não é plenamente aplicável ao Brasil, onde a Leishmaniose Visceral é causada por espécie diferente, e onde a

resistência aos antimoniais tem sido detectada quase exclusivamente entre espécies associadas à Leishmaniose Tegumentar.⁶³

Nosso estudo recrutou 59 sujeitos, dos quais 33 tiveram avaliação completa. Um rápido cotejo com a metodologia descrita acima mostra que estamos com recrutamento inferior ao planejamento original. Discutiremos ao final as razões para esse fato. Importa, no momento, discutir nossos achados, e alguns são dignos de nota.

Não houve diferença significativa no resultado final de cura sustentada entre os braços terapêuticos – embora tenha havido mais falhas e recidivas entre os antimoniais. Esse fato pode se dever ao pequeno número de sujeitos, mas também a um aspecto comum dos ensaios clínicos: o viés de inclusão. De fato, esses estudos têm sido criticados por não incluir pacientes representativos da verdadeira população de acometidos pela doença.

Tratava-se de um dilema ético: deveríamos incluir nos estudos pacientes graves, para os quais as normas (ainda que não baseadas em forte evidência) já indicavam o uso de uma das formulações de anfotericina? optamos, seguindo as boas práticas, por não incluí-los. Esse fato, além de reduzir o número de sujeitos, fez com que nos concentrássemos no tratamento de pacientes com formas mais brandas, que tinham maior chance de resposta adequada a qualquer das opções terapêuticas.

Diante de tal similaridade de desfechos finais, é interessante observar os indicadores laboratoriais de resposta rápida. A normalização completa do hemograma em 30 dias foi mais frequente nos sujeitos que receberam a

anfotericina lipossomal, conferindo um resultado marginalmente significativo ($p=0,05$), quando comparados àqueles que utilizaram antimoniais.

Uma análise mais minuciosa detectou variação no tempo de normalização de parâmetros específicos do hemograma, tais como: hemoglobina, leucócitos e plaquetas, com diferenças normalmente significativas, nas comparações entre os três braços, avaliados individualmente e / ou associados entre si.

Este tipo de análise não fora realizada anteriormente, porém seus resultados, apontam para uma superioridade da anfotericina lipossomal, uma vez que há significância estatística, na maioria das comparações que atestam melhor resposta a este fármaco.

Estes dados permitem, em associação com os achados de Sundar et al^{63,64,65} e Berman et al⁵¹, presumir a superioridade da anfotericina lipossomal em relação ao antimoniato de N-metil glucamina e de forma menos evidente em relação ao deoxicolato de anfotericina B.

Especialistas tem reforçado esta superioridade da anfotericina lipossomal em artigos de revisão e em publicações da OMS. Recomendam a formulação, mesmo em recidivas e ou pacientes com imunodeficiências, tais como Aids ou neoplasias hematológicas.^{52,66}

Os sujeitos que receberam a anfotericina lipossomal estavam nos grupos de mais rápida normalização para as três séries do hemograma. Entretanto um marcador relevante adicional – a dosagem sérica de albumina – não mostrou diferença entre os três grupos.

Tomados em conjunto, esses achados apontam para resposta mais rápida ao tratamento com anfotericina B (em geral) em relação aos antimoniais, e uma possível superioridade da anfotericina lipossomal em relação aos demais braços do estudo. Uma resposta mais rápida pode ter grande significado para pacientes graves, nos quais a recuperação fisiológica oportuna pode ser um importante passo para evitar a mortalidade.

A justificativa apontada para a melhor resposta da formulação lipossomal, tem sido basicamente a concentração plasmática mais elevada. Dois estudos que comparam a anfotericina lipossomal com o deoxicolato de anfotericina B, também mostram menores volumes de distribuição da droga e marcada diminuição na excreção.^{67,68}

Segundo o estudo de Bekersky et al⁵⁴, as doses iniciais mais elevadas da anfotericina lipossomal, proporcionam uma melhor penetração e maior persistência nos tecidos, que baixas doses da formulação deoxicolato. O autor sugere, inclusive, que doses iniciais maiores podem aumentar a eficácia da droga. E, embora a dose de anfotericina lipossomal seja apenas 3 vezes maior, que a de deoxicolato de anfotericina; sua concentração plasmática é 8-16 vezes maior; por outro lado a excreção renal e fecal é 10 vezes menor.

Os achados de Bekersky et al⁵⁴, confirmaram os experimentos de Walsh et al⁶⁸ observados anteriormente, e segundo os quais a concentração tecidual de anfotericina lipossomal é sete vezes maior que a de deoxicolato de anfotericina B ($p=0,002$), mas com acúmulo renal 14 vezes menor ($p=0,04$).

Dados mais consistentes foram obtidos nas análises de segurança. Nesse aspecto, foi possível documentar o predomínio da nefrotoxicidade do deoxicolato anfotericina B. Por outro lado, toxicidades hepática, pancreática e cardíaca foram mais frequentes entre os usuários de antimoníato. Mais uma vez, em todas as análises, houve um favorecimento da anfotericina lipossomal.

Ao longo dos anos, várias tentativas têm sido feitas para melhorar a ação das preparações de anfotericina B. A principal motivação é a busca por agentes que sejam mais eficazes e menos tóxicos; particularmente menos nefrotóxicos, que o deoxicolato de anfotericina B.

Os principais eventos agudos do deoxicolato de anfotericina B são: náuseas, vômitos, calafrios, febre, hipertensão, hipotensão e hipóxia. Estes efeitos parecem ser atenuados temporariamente pela adição de alguns medicamentos, tais como: dipirona, paracetamol e corticosteroides. Entretanto, na tentativa de mitigar os efeitos danosos de forma definitiva, chegou-se às formulações lipídicas da anfotericina.⁶⁹

Em um estudo randomizado, duplo-cego, multicêntrico, comparando a formulação lipossomal e convencional de anfotericina, em pacientes com febre persistente e neutropenia, Walsh et al⁷⁰ analisaram um total de 7.025 infusões que foram prospectivamente monitoradas: 3.622 infusões em pacientes que receberam anfotericina lipossomal e 3.403 nos que receberam a formulação convencional. Os pacientes que receberam a primeira, tinham menos reações relacionadas à infusão que àqueles que recebem a segunda. Houve aumento de temperatura maior que um grau em 7,4% dos pacientes em uso de lipossomal e 16% nos demais (p=0,001). Outras reações, sem febre, ocorreram em 21% na formulação

lipossomal *versus* 52% nas formulações convencionais ($p=0,001$). Entre os eventos cardiorrespiratórios documentados, houve uma incidência significativamente menor de hipertensão, taquicardia, hipotensão e hipóxia nos que receberam lipossomal que nos da formulação convencional. *Rash* cutâneo ocorreu quase exclusivamente, em pacientes tratados com lipossomal ($p=0,001$).

Os achados relacionados à nefrotoxicidade, são condizentes com o estudo de Hamill et al⁷⁰, que mostraram a comparação entre a formulação lipossomal em duas doses (3 e 6mg/kg/dose) e o deoxicolato de anfotericina B (0,7mg/kg/dose), houve significância estatística marginal ($p=0,04$) para a menor dosagem e não há significância na dosagem maior ($p=0,66$); em relação a ocorrência de eventos relacionados a infusão dos fármacos, houve significância favorecendo a formulação lipossomal nas duas doses ($p=0,001$).

A segurança da farmacoterapia da LVA é um item prioritário nas discussões do Programa de Controle de Leishmanioses da SVS. Recentemente, análise de dados de estudos clínicos e de vigilância epidemiológica da LVA mostraram elevada toxicidade, levando a reavaliação da indicação do deoxicolato de anfotericina. Nosso estudo é concordante em parte com esses relatos, ao demonstrar nefrotoxicidade em quase metade dos pacientes.

No que diz respeito à toxicidade hepática e pancreática, o estudo mostrou desempenho desfavorável ao antimoniato de N-metil glucamina quando comparado com ambas as formulações de anfotericina.

Os resultados apresentados são semelhantes aos resultados mostrados por Laguna et al⁷², onde avaliando pacientes com co-infecção Aids/LVA em

tratamentos com formulação lipídica de anfotericina B e antimoniato de N-metil glucamina, observaram hepatotoxicidade e pancreatotoxicidade para a segunda droga em cerca de 42% dos pacientes. Outro estudo mostrou 20% de ocorrência de pancreatite relacionada ao uso do antimoniato.⁷³

No que diz respeito a toxicidade cardíaca, os achados apresentados não são condizentes com a literatura sobre o tema. A ocorrência, durante o tratamento ou evidência de alteração prévia, de eventos como: bradicardia sustentada, aumento do espaço PR, aumento de onda T, bloqueios de ramo ou arritmias complexas, contra-indicam formalmente o uso do fármaco.¹

Alguns autores, apontam cerca de 9% na ocorrência de alterações cardíacas graves, com possibilidade de óbitos. Cardiotoxicidade perigosa incluem um segmento ST côncavo e um prolongamento do intervalo QT corrigido (QTc). Valores de QTc normais são inferiores a 0,37 s e 0,44 s para homens e mulheres, respectivamente, enquanto que um aumento de 0,03 s ou um valor absoluto superior a 0,50 s, são considerados graves.^{74,75,76}

Grandes dificuldades foram impostas a este estudo. Estas deveram-se aos entraves burocráticos para uso das verbas de custeio, que impediram, por exemplo, o recrutamento de sujeitos que residissem distante de capitais como Belém e São Luís. Além disso, dificuldades administrativas relativas ao pagamentos de exames e de monitores de pesquisa acarretaram várias pausas na inclusão de sujeitos. Ainda assim, pensamos que os resultados obtidos sejam úteis para embasar a política de recomendações terapêuticas para LVA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foram incluídos 59 sujeitos, dos quais 33 foram seguidos com finalização. As taxas de cura foram semelhantes entre anfotericina lipossomal (90,9%), deoxicolato de anfotericina B (90,9%) e antimoniato de N-metil glucamina (81,8%).
- A normalização do hemograma em trinta dias foi mais frequente entre os que receberam anfotericina lipossomal (significância marginal). Em termos específicos, os sujeitos recrutados para uso das anfotericinas tiveram normalização mais precoce de hemoglobina, leucócitos e plaquetas.
- A Nefrotoxicidade foi marcante entre sujeitos que receberam deoxicolato de anfotericina B. Hepatotoxicidade e Pancreatotoxicidade foram mais incidentes no braço do antimoniato N-metil glucamina. A cardiotoxicidade também predominou nesse braço terapêutico, com significância marginal.
- Em conjunto, os dados sugerem resposta mais rápida com administração de anfotericina B (como um todo), com pequena vantagem para a formulação lipossomal. Esta última também é favorecida nos resultados de análise de segurança.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- 1- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. -6. ed. - Brasília: MS, 2007.
- 2- Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. junho, 2006.
- 3- Magill AJ. Leishmania Species: Visceral (Kala-Azar), Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis. In Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. Seventh edition. 2010; 3463.
- 4- Lainson RT, Shaw JJ. Evolution, Classification and geographical distribution. In: Peters W. Killick-Kendrick R. The Leishmaniasis in biology and medicine. Academic press inc. London. 1987.
- 5- World Health Organization (WHO). Leishmaniasis: epidemiology and access to medicines – an update based on the outcomes of WHO regional meetings, literature review and experts' opinion. Geneve: WHO. 2012.
- 6- Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. PLoS ONE. 2012; 7: e35671
- 7- WHO. Control of the leishmaniasis. World Health Organ Tech Rep Ser. 2010; 949.
- 8- Postigo JA. WHO. Leishmaniasis in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region. Int J Antimicrob Agents. 2010; 36 (Suppl 1): S62-5.

- 9- Sundar S, Chakravarty J, Agarwal D, Rai M, Murray HW. Single-Dose Liposomal Amphotericin B for Visceral Leishmaniasis in India. *N Engl J Med*. 2010; 362: 504-12.
- 10- WHO. Sixtieth World Health Assembly (WHA60.13). Control of leishmaniasis. WHO Technical Report Series. Geneva: WHO. 2007.
- 11- Desjeux P, Alvar J. Leishmania-HIV co-infection: epidemiology in Europe. *Ann Trop Med Parasitol*. 2003; 97 (Suppl 1): S3-15.
- 12- Ready PD. Leishmaniasis Emergence in Europe. *Eurosurveillance*. 2010; 15: 19505.
- 13- Bogdan C, Schonian G, Banuls AL, Hide M, Pratlong F, Lorenz E, Rollinghoff M, Mertens R. Visceral Leishmaniasis in a German child who never entered a known endemic area: case report and review of literature . *Clin Infect Dis*. 2001; 31: 302-6.
- 14- Pelissari DM, Cechinel MP. Tratamento da leishmaniose visceral e tegumentar americana no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde*. 2011; 20: 107- 110.
- 15- Costa CHN, Tapety CMM, Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: Estudo de intervenção randomizado fatorial. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007; 40: 415-19.
- 16- Alves WA, Leishmaniose visceral americana: situação atual no Brasil *Leishmaniasis: current situation in Brazil*. *Bepa*. 2009; 6(71): 25-29.

- 17- Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo. Distribuição do número de casos e óbitos de LVA segundo município e GVE de infecção. Estado de São Paulo. 2010 a 2012.
- 18- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim eletrônico Epidemiológico • SVS/MS • ano 10 • nº 2 • abril, 2010; Brasília: MS, 2010.
- 19- Madalosso G, Fortaleza CM, Ribeiro AF, Cruz LL, Nogueira PA, Lindoso JAL. American visceral leishmaniasis: factors associated with lethality in the state of São Paulo, Brazil. J Trop Med. 2012; 2012: 281572.
- 20- Madalosso G. Leishmaniose visceral humana no Estado de São Paulo e fatores associados à letalidade, 1999 a 2005 [Dissertação]. Faculdade de Saúde Pública, São Paulo. 2006.
- 21- Werneck GL, Batista MS, Gomes JR, Costa DL, Costa CH. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. Infection. 2003; 31: 174–7.
- 22- Sampaio MJAQ, Cavalcanti NV, Alves JGB, Fernandes Filho MJC, Correia JB. Risk factors for death in children with visceral leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4: e877.
- 23- Oliveira JM, Fernandes AC, Dorval ME, Alves TP, Fernandes TD, et. Mortality due to visceral leishmaniasis: clinical and laboratory characteristics. Rev Soc Bras Med Trop. 2010; 43: 188–93.

- 24- De Araújo VEM, Morais MHF, Reis IA, Rabello A, Carneiro M Early Clinical Manifestations Associated with Death from Visceral Leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6:e1511.
- 25- Seaman J, Mercer AJ, Sondorp HE, Herwaldt BL. Epidemic visceral leishmaniasis in southern Sudan: treatment of severely debilitated patients under wartime conditions and with limited resources. *Ann Intern Med*. 1996; 124: 664–72.
- 26- Gorski S, Collin SM, Ritmeijer K, Keus K, Gatluak F, Mueller M, Davidson RN. Visceral Leishmaniasis Relapse in Southern Sudan (1999– 2007): A Retrospective Study of Risk Factors and Trends. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4: e705.
- 27- Sundar S, Sahu M, Mehta H, Gupta A, Kohli U, Rai M, Bezman JD, Murray HW. Noninvasive Management of Indian Visceral Leishmaniasis: Clinical application of Diagnosis by K39 antigen strip testing at a kala-azar referral unit. *Clin Inf Dis*. 2002; 35: 581 – 6.
- 28- National Guidelines for Health Workers. DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF VISCERAL LEISHMANIASIS (KALA AZAR) IN KENYA. Ministry of Public Health and Sanitation Department of Disease Prevention and Control Neglected Tropical Disease Program, 2012.
- 29- Cunningham J, Hasker E, Das P, El Safi S, Goto H, Mondal D, Mbuchi M, Mukhtar M. A global comparative evaluation of commercial immunochromatographic rapid diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Advance Access published*. *Clin Inf Dis*. 2012 (ahead of print)

- 30- Maia Z, Lírío M, Mistro S, Mendes CMC, Mehta SR et al. Comparative Study of rK39 Leishmania Antigen for Serodiagnosis of Visceral Leishmaniasis: Systematic Review with Meta-Analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 6: e1484.
- 31- Stauch A, Sarkar RR, Picado A, Ostyn B, Sundar S et al. Visceral Leishmaniasis in the Indian Subcontinent: Modelling Epidemiology and Control. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5: e1405.
- 32- Sadeghian G, Ziaei H, Sadeghi M. Electrocardiographic Changes in Patients with Cutaneous Leishmaniasis Treated with Systemic Glucantime. *Ann Acad Med Singapore*. 2008; 37: 961-8.
- 33- Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19: 111–26.
- 34- Al-Jaser M, El-Yazigi A, Croft SL. Pharmacokinetics of antimony in patients treated with sodium stibogluconate for cutaneous leishmaniasis. *Pharm Res*. 1995; 12:113–6.
- 35- Sundar S, More DK, Singh MK, Singh VP, Sharma S, Makharia A, Kumar PC, Murray HW. Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: report from the center of the Indian epidemic. *Clin Infect Dis*. 2000; 31:1104–1107.
- 36- Kothari H, Kumar P, Sundar S, Singh N. “Possibility of membrane modification as a mechanism of antimony resistance in *Leishmania donovani*.” *Parasitol Intern*. 2007; 56: 77-80.
- 37- Singh N. Drug resistance mechanisms in clinical isolates of *Leishmania donovani*. *Indian J Med Res*. 2006; 123: 411-22.

- 38- Choudhury K, Zander D, Kube M, Reinhardt R, Clos J. Identification of a *Leishmania infantum* gene mediating resistance to miltefosine and SbIII. *Intern J Parasitol*. 2008; 38: 1411-23.
- 39- Dube A, Singh N, Sundar S. Refractoriness to the treatment of sodium stibogluconate in Indian kalaazar field isolates persist in vitro and in vivo experimental models. *Parasitol Res*. 2005; 96: 216–23.
- 40- Bhattacharya SK, Sinha PK, Sundar S. “Phase 4 trial of miltefosine for the treatment of Indian visceral leishmaniasis.” *J Infect Dis*. 2007; 196: 591-8.
- 41- Maltezou HC. Drug Resistance in Visceral Leishmaniasis. *J Biomed Biotechnol*. 2010; 2010: 617521.
- 42- Ritmeijer K, Dejenie A, Assefa Y, Hundie TB, Mesure J, Boots G, Boer M, Davidson RN. A Comparison of Miltefosine and Sodium Stibogluconate for Treatment of Visceral Leishmaniasis in an Ethiopian Population with High Prevalence of HIV Infection. *Clin Infect Dis*. 2006; 43:357–64.
- 43- Minodier P, Piarroux R, Garnier JM, Unal D, Perrimond H, Dumon H. Pediatric visceral leishmaniasis in Southern France. *Ped Infect Dis J*. 1998; 17: 701-4.
- 44- Lachaud L, Bourgeois N, Plourde M, Leprohon P, Bastien P, Ouellette M. Parasite susceptibility to amphotericin B in failures of treatment for visceral leishmaniasis in patients coinfectd with HIV type 1 and *Leishmania infantum*. *Clin Infect Dis*. 2009; 48: e16–e22.

- 45- Sundar S, Chakravarty J, Rai VK. Amphotericin B treatment for Indian visceral leishmaniasis: response to 15 daily versus alternate-day infusions. *Clin Infect Dis*. 2007; 45: 556-61.
- 46- Das VNR, Niyamat RD, Siddiqui A, Pandey K et al. A controlled, randomized nonblinded clinical trial to assess the efficacy of amphotericin B deoxycholate as compared to pentamidine for the treatment of antimony unresponsive visceral leishmaniasis cases in Bihar, India. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2009; 5 117–124.
- 47- Laguna F, López-Vélez R, Pulido F, Salas A, Torre-Cisneros J, Torres E, Medrano FJ, Sanz J, Picó G, Gómez-Rodrigo J, Pasquau J, Alvar J. Treatment of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a randomized trial comparing meglumine antimoniate with amphotericin B. Spanish HIV- Leishmania Study Group. *AIDS*. 1999; 13: 1063-9.
- 48- Gradoni L, Soteriadou K, Louzir H et al. Drug regimens for visceral leishmaniasis in Mediterranean countries. *Trop Med Intern Health*. 2008; 13: 1272-6.
- 49- Thakur CP, Pandey AK, Sinha GP, Roy S, Behbehani K, Oliaro P. Comparison of three treatment regimens with liposomal amphotericin B (AmBisome) for visceral leishmaniasis in India: a randomized dose-finding study. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 1996; 90: 319–22.
- 50- Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Mishra M, Singh VR, Buffels R. Low-dose liposomal amphotericin B in refractory Indian visceral leishmaniasis: a multicenter study. *Am J Trop Med Hyg*. 2002; 66: 143-6.

- 51- Berman JD, Badaro R, Thakur CP, Wasunna KM, Behbehani K, Davidson R, Kuzoe F, Pang L, Weerasuriya K, Bryceson ADM. Efficacy and safety of liposomal amphotericin B (AmBisome) for visceral leishmaniasis in endemic developing countries. *Bulletin of the World Health Organization*. 1998; 76 (1): 25-32.
- 52- Balasegaram M, Ritmeijer K, Lima MA, Burza S, Genovese GO, Milani B, Gaspani S, Potet J, Chappuis F. *Expert Opin. Emerging Drugs*. 2012; 17(4): 493-510.
- 53- WHO. Control of the Leishmaniasis. Report of a meeting of the WHO expert committee on the control of Leishmaniasis. 22 - 26 March 2010.
- 54- Bekersky I, Fielding RM, Dressler DE, Lee JW, Buell DN, Walsh TJ. Pharmacokinetics, excretion, and mass balance of liposomal amphotericin B (AmBisome) and amphotericin B deoxycholate in humans. *Antimicrob Agents and Chemother*. 2002; 46: 828-33.
- 55- Seaman J, Boer C, Wilkinson R, de Jong J, de Wilde E, Sondorp E et al. Liposomal amphotericin B (AmBisome) in the treatment of complicated kala-azar under field conditions. *Clin Infect Dis*. 1995; 21(1): 188-193.
- 56- Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Sinha PK, Bhattacharya SK. Injectable paromomycin for visceral leishmaniasis in India. *New Engl J Med*. 2007; 356: 2571-81.
- 57- Jhingran A, Chawla B, Saxena S, Barrett MP, Madhubala R. Paromomycin: uptake and resistance in *Leishmania donovani*. *Mol Biochem Parasitol*. 2009; 164: 111-7.

- 58- Thakur CP, Oliaro P, Gothoskar S, Bhowmick S, Choudhury BK, Prasad S, et al. Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar) with aminosidine (paromomycin)- antimonial combinations, a pilot study in Bihar, India. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992; 86: 615-6.
- 59- Seaman J, Pryce D, Sondorp HE, Moody A, Bryceson AD, Davidson RN. Epidemic visceral leishmaniasis in Sudan: a randomized trial of aminosidine plus sodium stibogluconate versus sodium stibogluconate alone. *J Infect Dis.* 1993; 168: 715-20.
- 60- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. Leishmaniose Visceral grave: normas e condutas. Brasília: MS. 2006.
- 61- Division of aids table for grading the severity of adult and pediatric adverse events publish date: December. 2004.
- 62- Torres DC, Adaui V, Ribeiro-Alves M, Romero GA, Arévalo J, Cupolillo E, Dujardin JC. Targeted gene expression profiling in *Leishmania braziliensis* and *Leishmania guyanensis* parasites isolated from Brazilian patients with different antimonial treatment outcomes. *Infect Genet Evol.* 2010; 10: 727-33.
- 63- Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Mishra M, Singh VR, Buffels R. Low dose liposomal amphotericin B in refractory Indian visceral leishmaniasis: a multicenter study. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; vol. 66 no. 2143- 146.
- 64- Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Mishra M, Singh VP, Buffels R. Single dose liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis in India: a multicenter study. *Clin Infect Dis.* 2003; 37(6): 800-804.

- 65- Sundar S, Mehta H, Suresh AV, Singh SP, Rai M, Murray HW. Amphotericin B treatment for Indian visceral leishmaniasis: conventional versus lipid formulations. *Clin Infect Dis*. 2004; 38(3): 377-383.
- 66- Report of a WHO informal Consultation on Liposomal Amphotericin B in the Treatment of Visceral Leishmaniasis. Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/resources/AmBisome-Report.pdf. 2005.
- 67- Adler-Moore J, Proffitt RT. Effect of tissue penetration on AmBisome efficacy. *Curr Opin Investig Drugs*. 2003; 4: 179- 85.
- 68- Walsh TJ, Goodman JL, Pappas P, Bekersky I, Buell DN, Roden M et al. Safety, tolerance, and pharmacokinetics of high-dose liposomal amphotericin B (AmBisome) in patients infected with *Aspergillus* species and other filamentous fungi: maximum tolerated dose study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45: 3487-96.
- 69- Thakur CP. A single high dose treatment of kala-azar with Ambisome (amphotericin B lipid complex): a pilot study. *Int J Antimicrob Agents*. 2001.
- 70- Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, Bodensteiner D, et al. Liposomal amphotericin b for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med*. 1999; 340: 764– 71.
- 71- Hamill RJ, Sobel JD, El-Sadr W, Johnson PC, Graybill JR, Javaly K, Barker DE and the AmBisome Cryptococcal Meningitis Study Group. Comparison of 2 Doses of Liposomal Amphotericin B and Conventional Amphotericin B Deoxycholate for Treatment of AIDS-Associated Acute Cryptococcal Meningitis: A Randomized,

Double-Blind Clinical Trial of Efficacy and Safety. *Clin Infect Dis*. 2010; 51(2): 225–232.

72- Laguna F, Videla S, Jiménez-Mejías ME, Sirera G, Torre-Cisneros J, Ribera E, Prados D, Clotet B, Sust M, López-Vélez R, Alvar J. on behalf of the Spanish HIV–Leishmania Study Group. Amphotericin B lipid complex versus meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis in patients infected with HIV: a randomized pilot study. *J of Antimicrob Chemother*. 2003; 52 (3): 464-468.

73- Delgado J, Macías J, Pineda JA, Corzo JE, González-moreno MP, De la Rosa R. High frequency of serious side effects from meglumine antimoniate Given without an upper limit dose for the treatment of Visceral Leishmaniasis in Human immunodeficiency virus Type-1–infected patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1999; 61(5): pp. 766–769.

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

75- Fisch C. Electrocardiography and vectorcardiography. In *Heart Diseases*, 2nd ed.; Philadelphia, PA, USA. 1984; pp. 195-257.

76- Chulay JD, Spencer HC, Mugambi M. Electrocardiographic changes during treatment of leishmaniasis with pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Am J Trop Med Hyg*. 1985; 34, 792-799.

77- Bluhm R, Borgerson K. Evidence-based medicine. In: Gifford F. *Philosophy of medicine*. Elsevier (Kindle Edition), 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE I- Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE):**PROJETO DE AUXÍLIO: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA FARMACOTERAPIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL.**

Você (ou seu dependente legal) está sendo convidado a participar desta pesquisa desenvolvida pela Rede Nacional de Pesquisa Clínica.

Para que você seja completamente informado sobre a natureza, os objetivos e os procedimentos que serão realizados durante o seu desenvolvimento, solicitamos que você tome conhecimento deste formulário e faça quaisquer perguntas sobre as dúvidas que você possa ter antes de concordar em participar deste estudo.

Resumo:

A Leishmaniose Visceral é uma doença grave que ocorre em várias regiões do Brasil. Para que se possa combater a Leishmaniose, precisamos identificar as opções de tratamento mais eficazes e que causem menos efeitos colaterais. Por essa razão, estamos comparando três opções de tratamento: O Antimoniato de Meglumina (Glucantime®), o Deoxicolato de Anfotericina B (Fungizon®) e a Anfotericina B lipossomal (Ambisome®). Todos esses medicamentos são comprovadamente eficazes para o tratamento da Leishmaniose Visceral.

Caso você concorde em participar da pesquisa, será sorteado para um grupo e receberá uma dessas opções de tratamento. Caso venha a desenvolver efeitos colaterais sérios do tratamento, este será imediatamente substituído por outro. Participando do estudo, você será acompanhado durante 180 dias (incluindo o período de tratamento e os meses posteriores). Nesse período, colherá exames para monitorizar a resposta terapêutica e qualquer efeito colateral.

Caso tenhamos seu consentimento, parte do material coletado para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral será encaminhada à Unidade de Pesquisas Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, onde ficará estocada até o final da pesquisa.

Salientamos que o estudo é sigiloso, e que nenhum dado que permita a identificação do participante será divulgado.

Ao mesmo tempo, agradecemos pelo seu consentimento em participar desta pesquisa, que nos ajudará a conhecer melhor a *Leishmaniose* e contribuirá para o seu tratamento e controle.

DECLARAÇÃO

Declaro que o presente projeto de pesquisa foi explicado em detalhes, ao Sr(a)_____

() Paciente.

() Responsável legal pelo paciente: _____.

Assinatura do médico responsável pela explicação

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo sido satisfatoriamente informado sobre o estudo “**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA FARMACOTERAPIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL**” realizado sob a responsabilidade dos Drs. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza e Edson Carvalho de Melo, concordo em (ou autorizo meu dependente legal a) participar do mesmo. Estou também ciente que os pesquisadores estarão disponíveis para responder quaisquer perguntas e de que posso retirar este meu consentimento a qualquer tempo, podendo, caso não me sinta atendido, entrar em contato com o Diretor da Unidade de Pesquisas Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

_____, _____ de _____ de 2010.

Assinatura do paciente ou responsável

Contatos dos pesquisadores:

Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Endereço profissional:

Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem

Faculdade de Medicina de Botucatu – Universidade Estadual Paulista

Distrito de Rubião Junior, S/N – Botucatu, SP CEP 18603-970

Fone: (14) 3811 6212 Fax: (14) 3815 9898

Endereço residencial:

Rua Professor Milton Guimarães, 311

Jardim Itamaraty – Botucatu, SP – CEP 18608-025

Fone: (14) 9601 0996

Dr. Edson Carvalho De Melo

Endereço profissional:

Hospital Estadual Manoel de Abreu

Rua Salvador Filardi, 6-88, Bairro: Alto Paraíso. Bauru – SP, CEP: 17051110

Tel.: 3108-0100

Endereço residencial:

Rua Comendador Leite- 2-27, VL Camargo, Bauru-SP, CEP 17060150

Fone: (14) 8147 7902

APÊNDICE II- Ficha clínica *online*: Página de acesso.

Login e Senha : Lembre-se, Guarde seguramente seu **LOGIN** e sua **SENHA** pois eles são pessoais e intransferíveis.

Login:

Senha:

☐ Lembre-se

[Política de Privacidade](#) [Política de Serviço](#)

UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Campus de Botucatu

Tecnologia, Desenvolvimento, e Layout

Assessoria de Informática - Grupo de Tecnologia da Informação

APÊNDICE III- Página de Identificação, Randomização e Avaliação clínica:



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
 "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
 Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina de Botucatu

Sistema Multicêntrico de Leishmaniose

 Olá Carlos Magno, bem-vindo(a) ao sistema
  Sair do Sistema





[VOLTAR](#) | [ADMINISTRADORES](#) | [ÚLTIMA PESQUISA](#) |

Instruções	Centro	Identificação	Dia 0	Dia 03	Dia 07	Dia 15	Dia 30	Dia 90	Dia 180
Informar Recidiva		Informar Retratamento		Finalizar Caso					

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Centro: Faculdade de Medicina de Botucatu

Nº ID/RG: 123456

Nome: Edson Carvalho de Melo

Sexo: Masculino

Nascimento: 18/3/1974

Idade: 35 anos

Estado civil: Casado

Procedência: São Paulo-BAURU

Naturalidade: Pará-BELEM

Raça: Branca

VII – ELETROCARDIOGRAMA (ECG)

Data do exame: Ex: dd/mm/aaaa

Selecione

VIII – MIELOGRAMA

Data do exame: Ex: dd/mm/aaaa

Resultado:

IV – RANDOMIZAÇÃO

	Maranhão	Pará	São Paulo
< 6 meses	Não	Não	Não
6 meses – 10 anos	Sim	Sim	Não
11 anos – 49 anos	Sim	Sim	Sim
50 anos – 64 anos	Sim	Sim	Não
> ou = 65 anos	Não	Não	Não

Grupo de Randomização

Grupo A	Grupo B	Grupo C
[X] Antimoniato de Meglumina 20 mg/Kg/dia por 30 dias	[] Deoxicolato de Anfotericina B 1 mg/Kg/dia por 20 dias	[] Anfotericina B lipossomal 5 mg/Kg/dia por 5 dias

X – EVENTOS ADVERSOS

Evento adverso (Conforme Tabela ACTG em anexo)	Data do evento (dd/mm/aaaa)	Intensidade (conforme Tabela ACTG) Grau 1 - leve Grau 2 - moderado Grau 3 - grave Grau 4 - potencialmente fatal	Relação com a droga 0 = Não 1 = Definida 2 = Provável	Ação tomada 0 = Nenhuma 1 = Redução da dose 2 = Suspensão	Resultado 1 = Recuperado 2 = Não recuperado 3 = Sequela 4 = Fatal	Causa da morte

Inicial

Grau 1

nao

Nenhuma

Recuperado

NÃO

APÊNDICE IV- Página de Finalização:



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
 "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
 Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina de Botucatu

Sistema Multicêntrico de Leishmaniose

 Olá Carlos Magno, bem-vindo(a) ao sistema
  Sair do Sistema





[VOLTAR](#) | [ADMINISTRADOR](#) | [ÚLTIMA PESQUISA](#) |

Instruções	Centro	Identificação	Dia 0	Dia 03	Dia 07	Dia 15	Dia 30	Dia 90	Dia 180
Informar Recidiva		Informar Retratamento			Finalizar Caso				

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Centro: Faculdade de Medicina de Botucatu

Nº ID/RG: 123456

Nome: Edson Carvalho de Melo

Sexo: Masculino

Nascimento: 18/3/1974

Idade: 35 anos

Estado civil: Casado

Procedência: São Paulo-BAURU

Naturalidade: Pará-BELEM

Raça: Branca

FINALIZAÇÃO

Data: 18/08/2010 Ex: dd/mm/aaaa

Assintomático no D180: ☒

Falha: ☐

Recidiva: ☐

Quebra de protocolo: ☐

Suspensão por evento adverso: ☐

Perda de Segmento: ☐

Óbito: ☐

Dias após início do tratamento:

Dias após início do tratamento:

Dias após início do tratamento:

Dias após início do tratamento:

Dias após início do tratamento: