



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

SHEILA VIANA CASTELO BRANCO GONÇALVES

**TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA COM TERMOTERAPIA
NO BRASIL: ESTUDO DE EFICÁCIA E DE SEGURANÇA**

Teresina
2016

SHEILA VIANA CASTELO BRANCO GONÇALVES

**TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA COM TERMOTERAPIA
NO BRASIL: ESTUDO DE EFICÁCIA E DE SEGURANÇA**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa

Teresina
2016

Universidade Federal do Piauí
Serviço de Processamento Técnico
Biblioteca Setorial do centro de Ciências da Saúde

G635t Gonçalves, Sheila Viana Castelo Branco.
Tratamento da leishmaniose cutânea com termoterapia no Brasil : estudo de eficácia e de segurança / Sheila Viana Castelo Branco Gonçalves. -- Teresina, 2016.
77 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Pós-Graduação em Ciências e Saúde, 2016.

"Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa."

Bibliografia

1. Leishmaniose cutânea. 2. Leishmania. 3. Terapêutica. I. Título. II. Teresina – Universidade Federal do Piauí.

CDD 616.96

SHEILA VIANA CASTELO BRANCO GONÇALVES

**TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA COM TERMOTERAPIA
NO BRASIL: ESTUDO DE EFICÁCIA E DE SEGURANÇA**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa
Orientador – Universidade Federal do Piauí – UFPI

Prof. Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero
1º Examinador - Universidade de Brasília UnB

Prof.^a Dr.^a Ana Lucia França Costa
2º Examinador – Universidade Federal do Piauí – UFPI

À minha mãe-irmã Samantha,
pelo incentivo... o começo de tudo...

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e me ajudar a escolher os melhores caminhos sempre.

Ao Dr. Carlos Henrique Nery Costa, meu orientador, pela competência, pela paciência, pelo apoio e pelos ensinamentos desde a graduação até a conclusão deste trabalho.

À Dra. Dorcas Lamounier Costa sempre disposta a ouvir e opinar de maneira sensata nas mais diferentes situações.

Ao Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella que me acolheu de portas abertas; aos médicos e colaboradores, pela ajuda na captação de pacientes e a todos os funcionários, especialmente João Lima, Francisca Silva e Daniele Medeiros pela cooperação com as demandas da pesquisa.

A todos os amigos do laboratório de Pesquisas em Leishmanioses, em especial Vladimir Costa, Jurecir Silva, Jailthon Silva, Alexandre Silva, Teresinha Farias, Adeno Oliveira e Gabriel Reis que me ajudaram com presteza sempre que solicitados.

Aos patologistas Ronald Araújo e Gerônimo Júnior, pela imensa colaboração nos exames histopatológicos.

Ao Dr. Jonh R. David pela doação do aparelho ThermoMed utilizado na pesquisa e à Gene Hedin pelo suporte técnico concedido ao longo do estudo.

À coordenação do mestrado em Ciências e Saúde, aos professores e aos meus colegas de pós-graduação, agradeço o acolhimento e o apoio nesse período.

À Universidade Federal do Piauí, pelo incentivo à pós-graduação e à pesquisa.

À FADEX, pelo apoio financeiro na realização dos exames complementares.

Aos pacientes e seus familiares, pela confiança e ajuda em todas as etapas da pesquisa.

Aos meus pais, Delson e Sheila, que souberam educar seus filhos com amor e ensinar a eles o valor da honestidade, do estudo e do trabalho árduo para alcançar o sucesso profissional. Aos meus irmãos pela amizade e incentivo constantes, especialmente Bernardino pela ajuda com os artigos.

E, por fim, não poderia deixar de agradecer ao meu companheiro Wildson e aos meus filhos Ana e Arthur pela paciência, pelo carinho e pela compreensão da ausência em muitos momentos. É por vocês que busco ser cada dia uma pessoa melhor.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”
Cora Coralina

RESUMO

Introdução: Os antimoniais pentavalentes permanecem como as drogas padronizadas no tratamento da leishmaniose cutânea no Brasil. O alto custo, a dificuldade de administração, o tempo de tratamento, a toxicidade e o aumento da morbidade são fatores limitantes no uso dessas medicações. A busca por melhores opções terapêuticas continua a ser um desafio. Por esta razão, descrevemos a resposta à termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose cutânea localizada, bem como avaliamos sua segurança e tolerabilidade.

Pacientes e métodos: Foi feito um ensaio clínico aberto não comparativo conduzido no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella, em Teresina, Piauí, Brasil, no período de abril a setembro de 2015, com um total de 15 pacientes que tiveram o diagnóstico de leishmaniose cutânea confirmados parasitologicamente. Aqueles com infecção secundária nas lesões receberam antibiótico previamente. Foram excluídos do estudo pacientes com lesões na mucosa oral ou nasal, mais de dez lesões, lesões localizadas no nariz, nos lábios e nos olhos ou adjacente a esses locais e imunossuprimidos. Uma única sessão de termoterapia com radiofrequência (aparelho ThermoMed) a 50°C por 30 segundos foi aplicada na lesão e em sua borda. Quando havia mais de uma lesão no mesmo paciente, apenas a maior era tratada inicialmente. Caso após 30 dias não demonstrasse evidências de cicatrização, a lesão menor também recebia a termoterapia. A cura clínica foi definida como cicatrização visível até três meses após a aplicação do tratamento. Os pacientes foram acompanhados durante seis meses e não houve perda de seguimento. **Resultados:** Um total de 23 lesões foram acompanhadas em 15 pacientes e somente duas evoluíram para a cura sem a necessidade de receber tratamento. Houve completa cicatrização das lesões em 13 dos 15 pacientes (86,7%). Os principais efeitos colaterais descritos foram prurido, ardência e dor. Apenas um paciente apresentou bolhas no local da aplicação. A área de reepitelização de 60% dos pacientes ficou com excelente aspecto. Cicatriz hiperocrômica foi observada em 33,3% das lesões e somente uma paciente com duas lesões evoluiu com hipocromia no local do tratamento. **Conclusão:** A leishmaniose cutânea localizada pode ser tratada com uma única aplicação de termoterapia com radiofrequência de maneira segura, eficaz, com bom resultado cosmético, sem a toxicidade e os efeitos colaterais do tratamento tradicional com os antimoniais pentavalentes.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea. *Leishmania*. Terapêutica. Termoterapia. Hipertermia terapêutica.

ABSTRACT

Introduction: Pentavalent antimonials remain as the standard drugs for cutaneous leishmaniasis in Brazil. Its high cost, hard administration, long treatment time, toxicity and increasing morbidity are factors that limit the use of these drugs. The search for better therapy options is still a challenge. For this reason, we described the response to radiofrequency heat therapy while treating localized cutaneous leishmaniasis, as well as we assessed its safety and tolerability. **Patients and methods:** We conducted a non-comparative open label clinical trial at Natan Portella Tropical Diseases Hospital, in Teresina Piaui, Brazil, from April to September 2015, among 15 patients parasitologically confirmed to have cutaneous leishmaniasis. Patients with secondary infections in the injuries were previously treated with antibiotics. We excluded from the study patients with lesions in the oral or nasal mucous tissues, with over ten lesions, with lesions in the nose, lips or eyes or adjacent to these sites and immunosuppressed patients. A single radiofrequency heat therapy session (ThermoMed device) at 50°C for 30 seconds was applied in the lesion and its edges. In patients with more than one lesion, only the largest one was initially treated. If after 30 days there was no evidence of healing, the smaller lesion was also treated with heat therapy. Clinic cure was defined as visible healing until three months after the treatment application. The patients were accompanied for six months and there was no follow-up loss. **Results:** 23 lesions in 15 patients were supervised and only two healed without being treated. Complete healing was achieved by 13 (86.7%) patients. The main described side effects were itching, burning sensation and pain. Only one patient presented blisters at the site of application. The new epithelial tissue had an excellent aspect in over half (60%) the patients. Hyperchromic scars were observed in 33,3% of the lesions and only one patients with two lesions evolved to hypochromia at the site of the treatment. **Conclusion:** Localized cutaneous leishmaniasis can be safely and effectively treated with a single session of radiofrequency heat therapy, resulting in a good cosmetic result and without the toxicity and side effects usually found under conventional treatment with pentavalent antimonials.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis. *Leishmania*. Therapy. Thermotherapy. Heat Therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Leishmania</i> : (a) Forma flagelada ou promastigota (b) Forma aflagelada ou amastigota	15
Figura 2 – Distribuição das espécies de <i>leishmania</i> responsáveis pela etiologia da leishmaniose cutânea no Brasil.....	16
Figura 3 – Ciclo biológico de <i>leishmania</i> spp.....	17
Figura 4 – Esquema terapêutico para leishmaniose tegumentar Americana.....	21
Figura 5 – Efeitos colaterais do antimoniato de n-metilglucamina (Glucantime®).....	22
Figura 6 – Apresentação, forma de administração e efeitos colaterais da Anfotericina B.....	23
Figura 7 – Apresentação, administração e efeitos colaterais da Anfotericina B lipossomal....	23
Figura 8 – Apresentação, forma de administração e efeitos colaterais da Pentamidina.....	24
Figura 9 – Aparelho de radiofrequência Thermomed modelo 1.8	33
Figura 10 – Antes e depois do tratamento com termoterapia	38
Figura 11– Antes e depois do tratamento com termoterapia	38
Figura 12 – Antes e depois do tratamento com termoterapia	39
Figura 13– Antes e depois do tratamento com termoterapia	40
Figura 14 – Bolhas observadas após aplicação da termoterapia por radiofrequência.....	41
Figura 15 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com boa cicatrização	42
Figura 16 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com cicatriz hiperocrômica	42
Figura 17 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com cicatriz hipocrômica	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Procedência dos pacientes (n=15)	35
Tabela 2 – Características demográficas e clínicas dos pacientes (n=15).....	35
Tabela 3 – Exames complementares dos pacientes.....	36
Tabela 4 – Características das lesões (n=23)	37
Tabela 5 – Percentual de cura dos pacientes tratados com termoterapia	37
Tabela 6 – Percentual de cura por pacientes e por lesões após tratamento com termoterapia	40
Tabela 7 – Efeitos adversos da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose cutânea.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Células NK – células *natural killer*

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ELISA Ensaio – imunoenzimático (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*)

FADEX – Fundação Cultural e de Fomento à Pesquisa, Ensino e Extensão

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

IC95% – Intervalo de confiança com 95% de probabilidade

IDTNP – Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella

IFI – imunoflorescência indireta

IFN- γ – Interferon γ

IRA – Insuficiência renal aguda

LC – Leishmaniose Cutânea

LCDf – Leishmaniose Cutânea Difusa

LCDs – Leishmaniose Cutânea Disseminada

LCM – Leishmaniose Cutâneomucosa

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

NNN – Novy-MacNeal-Nicole

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Th2 – Linfócitos T *helper* CD4+ da subclasse funcional 1

UFPI – Universidade Federal do Piauí

® – Marca registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Etiologia e epidemiologia da leishmaniose cutânea	15
2.2	Manifestações clínicas da leishmaniose cutânea	17
2.3	Diagnóstico da leishmaniose cutânea	19
2.4	Tratamento convencional da leishmaniose cutânea	21
2.5	Tratamentos locais	24
2.6	Termossensibilidade da <i>Leishmania</i>	25
2.7	Termoterapia com radiofrequência	25
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo Geral	28
3.2	Objetivos específicos	28
4	PACIENTES E MÉTODOS	29
4.1	Local do estudo	29
4.2	Considerações éticas	29
4.3	Delineamento do estudo	29
4.3.1	Desenho do estudo	29
4.3.2	População de estudo	30
4.3.3	Critérios de inclusão	30
4.3.4	Critérios de exclusão.....	30
4.3.5	Mensuração da exposição	30
4.3.5.1	Teste cutâneo de Montenegro.....	31
4.3.5.2	Exame histopatológico	31
4.3.5.3	Pesquisa direta	31
4.3.5.4	Cultura	31
4.3.5.5	Diagnóstico molecular.....	31
4.3.5.6	Triagem do vírus da imunodeficiência adquirida.....	32
4.3.5.7	Exames complementares gerais.....	32

4.3.5.8 Intervenção	32
4.3.6 Mensuração do desfecho.....	34
4.4 Análise estatística.....	34
5 RESULTADOS	35
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
APÊNDICES.....	58
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Adultos)	58
Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Pais ou responsáveis)	62
Apêndice C - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido	66
Apêndice D – Instrumento de coleta de dados.....	70
ANEXOS.....	73

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças infecciosas causadas por protozoários da família Tripanossomatidae, da ordem Kinetoplastidae, do gênero *Leishmania*. Existem até o momento 14 espécies de *Leishmania* reconhecidas do subgênero *Leishmania* e *Viannia*, que podem produzir uma variedade de lesões cutâneas e mucosas. No Brasil, as espécies que causam a leishmaniose tegumentar americana (LTA) são basicamente três: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Outras espécies menos comuns podem causar doença cutânea entre elas estão *L. (Viannia) lainsoni*, *L. (Viannia) naiffi*, *L. (Viannia) shawi* e *L. (Viannia) lindenbergi*. No entanto, a maioria dos casos é causada por *L. (V.) braziliensis*, produzindo a principal forma clínica da LTA: a leishmaniose cutânea localizada (GRIMALDI; DAVID; MCMAHON-PRATT, 1987; GRIMALDI; TESH; MCMAHON-PRATT, 1989; LAINSON; SHAW, 1972). Os vetores são insetos flebotomíneos conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras, birigui, sendo as principais espécies envolvidas na transmissão *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcome* e *L. migonei* (LAINSON *et al.*, 1992, 1994).

A doença é endêmica em 88 países e sua notificação é compulsória em apenas 30. Cerca de 90% dos casos ocorrem no Afeganistão, Argélia, Brasil, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e Síria. No Novo Mundo ela é encontrada desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. A incidência anual é estimada em 1,5 – 2 milhões de casos (ALVAR *et al.*, 2012; WHO, 2010). No Brasil, está presente em todos os estados com elevada incidência nos últimos 20 anos, com 20.000 novos casos em média por ano de 11,8 casos/100.000 habitantes (BRASIL, 2014). Apesar do estado do Piauí, localizado no nordeste do Brasil, ser um dos estados com maior número de casos de leishmaniose visceral, ele permanece com baixa incidência em relação ao número de casos de leishmaniose tegumentar, ocupando a quarta colocação entre os estados do Nordeste. Em 2014, o Estado do Piauí notificou 85 casos de leishmaniose tegumentar americana, com coeficiente de detecção de 4,1 casos por 100.000 habitantes, abaixo da média nacional (BRASIL, 2014).

As leishmanioses figuram entre as doenças mais negligenciadas devido aos recursos limitados investidos no seu diagnóstico, tratamento e controle, juntamente com a sua forte associação com pobreza e conflitos sociais. Ocorre com maior frequência em áreas economicamente desfavorecidas, sem saneamento básico, com baixos níveis de educação e renda (MASHAYEKHI-GHOYONLO *et al.*, 2015; YAMEY; TORREELE, 2002). Merece

especial atenção pela sua magnitude, pelo risco de causar deformidades no ser humano e também pelo envolvimento psicológico, com reflexos no campo social e econômico. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a leishmaniose cutânea como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e pela capacidade de produzir deformidades (WHO, 2010).

A leishmaniose cutânea (LC), ao longo dos anos, comportou-se como uma doença classicamente profissional, acometendo de forma típica homens adultos expostos em regiões de mata. Contudo, tem apresentado, nas últimas décadas, mudanças em relação ao seu comportamento epidemiológico, diante do extenso processo de urbanização, com crescente acometimento de mulheres e crianças (MURBACK *et al.*, 2011).

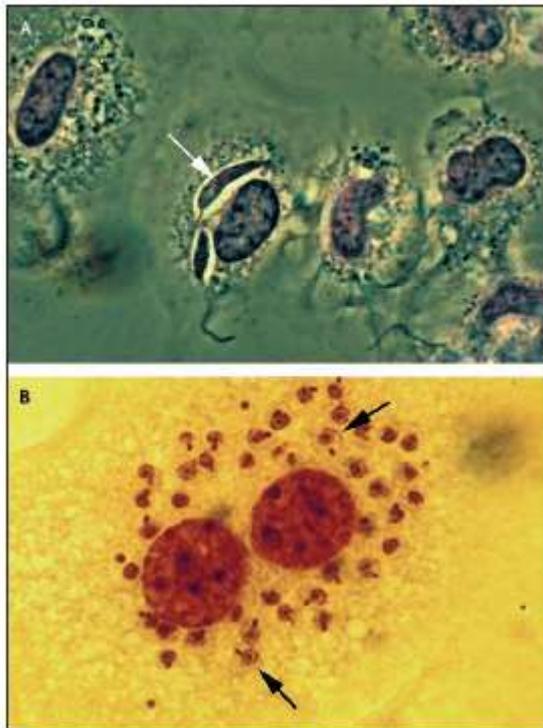
Até o momento, não existem vacinas aprovadas contra as leishmanioses e as drogas utilizadas no seu tratamento são extremamente tóxicas, caras e de difícil administração. As opções terapêuticas para o tratamento dessa doença permanecem muito restritas. Além disso, já existem evidências no Velho Mundo de resistência dos parasitas às drogas comumente utilizadas, como os antimoniais pentavalentes. A busca por novas opções de tratamento para a LC se faz necessária para poupar os indivíduos dos transtornos advindos com suas terapias tradicionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia e epidemiologia da leishmaniose cutânea

A *Leishmania* é um parasito intracelular obrigatório que possui uma forma flagelada (promastigota) encontrada no tubo digestivo do flebotomíneo e outra forma aflagelada (amastigota) parasita de células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro (MURRAY et al., 2005) (Figura 1).

Figura 1 – *Leishmania*: (a) forma flagelada ou promastigota (b) forma aflagelada ou amastigota



Fonte: Murray (2005).

No Continente Americano, são conhecidas 11 espécies dermatrópicas de *Leishmania* causadoras da doença em humanos. No Brasil, já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e somente uma do subgênero *Leishmania*. *L.(V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis* são as três principais espécies causadoras da doença no país. Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, as espécies *L.(V.) lainsoni*, *L.(V.) naiffi*, *L.(V.) lindenbergi* e *L.(V.) shawi* também já foram identificadas (BRASIL, 2010). A Figura 2 mostra as principais espécies responsáveis pela LC no Brasil.

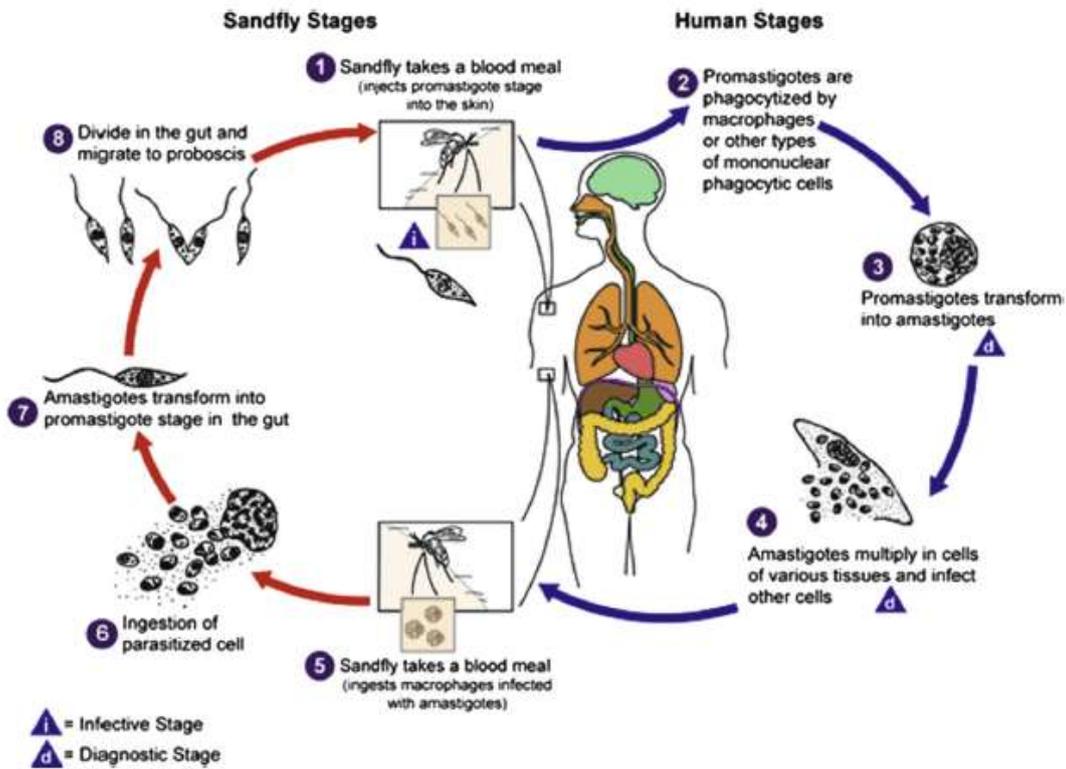
Figura 2 – Distribuição das espécies de *Leishmania* responsáveis pela etiologia da leishmaniose cutânea no Brasil



Fonte: Brasil (2010).

A leishmaniose cutânea é transmitida pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas. O ciclo de vida da *Leishmania* spp. acontece em parte no hospedeiro invertebrado e outra no hospedeiro vertebrado. O hospedeiro invertebrado, flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, infecta-se com as formas amastigotas ao picar um indivíduo ou um animal parasitado. No tubo digestivo do inseto, as amastigotas modificam-se para a forma promastigotas flageladas, as quais se multiplicam por divisão binária. Essa diferenciação ocorre mais especificamente no intestino posterior para as espécies pertencentes ao subgênero *Viannia*, e intestino anterior para as do subgênero *Leishmania*. Ao se alimentar, o flebotomíneo faz novo repasto sanguíneo, introduzindo assim, as formas flageladas no homem ou animal. No hospedeiro vertebrado, as promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos da pele ou mucosas, e retornam a forma amastigota intracelular, que se multiplica por divisão binária, determinando a morte da célula hospedeira. Ao sair da célula os parasitas modificam-se novamente para as formas promastigotas, que são fagocitadas pelos macrófagos. Quando o inseto vetor se alimenta deste indivíduo ou animal infectado o ciclo se reinicia (Figura 3) (REY, 2001).

Figura 3 – Ciclo biológico de *Leishmania* spp.



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2016).

2.2 Manifestações clínicas da leishmaniose cutânea

As leishmanioses cutâneas constituem doenças infecto-parasitárias que apresentam diferentes formas de manifestação clínica, desde lesões cutâneas autotratáveis a ulcerações mucocutâneas desfigurantes. Essas diferentes apresentações clínicas dependem do agente etiológico causador da doença e da imunidade do hospedeiro. O período de incubação da forma cutânea da doença varia de uma a 12 semanas, com lesões mucosas aparecendo cerca de um a dois anos depois do início da infecção (HEPBURN, 2003).

A lesão inicial surge após a picada do flebotomíneo infectado pelas formas promastigotas do parasito. A lesão primária é geralmente única, embora eventualmente múltiplas picadas do flebotomíneo ou a disseminação local possam gerar um número elevado de lesões (MARZOCHI, 1992). Acompanha-se de adenopatia regional, com ou sem linfangite, em 12 a 30% dos casos. Forma-se uma mácula, que evolui para uma pápula eritematosa pequena, e progride lentamente para nódulo. Com a evolução, ganha destaque o

notável polimorfismo das lesões, sendo possível a apresentação com úlceras, nódulos lisos, placas planas ou verrucosas com hiperqueratose. Podem permanecer localizadas e evoluírem para cura espontânea ou, através dos vasos linfáticos, se disseminarem e produzir lesões secundárias em outras regiões da pele e mucosas. São usualmente encontradas em áreas expostas como face, braços e pernas (DAVID; CRAFT, 2009; MAURER; DONDJI; VON STEBUT, 2009; REITHINGER et al., 2007). Estas lesões podem ser agravadas por infecções bacterianas secundárias, envolvimento linfático, recorrência local, comprometimento de mucosas, além do risco de linfonodopatia não ser descartado (DAVID; CRAFT, 2009; MORAES; CORREIA FILHO; SANTOS, 1993). Constumam ser assintomáticas ou ter prurido leve e geralmente não são dolorosas. Sintomas sistêmicos são raros, mas febre, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia têm sido relatados nas lesões ulceradas de *L. braziliensis* (SOUSA et al., 1995).

Diante da diversidade de características clínicas, a LC é basicamente dividida em: Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL); Leishmaniose Cutânea Disseminada (LCDis); Leishmaniose Cutânea Difusa (LCDif) e Leishmaniose Cutâneomucosa (LCM).

Na LCL são frequentes as ulcerações com bordas elevadas, endurecidas e fundo com tecido de granulação grosseira, configurando a clássica lesão com borda em moldura, podendo ser recoberta com crosta e apresentar exsudação (GONTIJO; CARVALHO, 2003; KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015). Costumam deixar cicatrizes com hiperpigmentação ou despigmentadas. As lesões agudas são muitas vezes confundidas com furúnculos ou infecções bacterianas e as crônicas com hanseníase, micoses profundas como paracoccidiodomicose e cromomicose, infecções por micobactérias como tuberculose, sífilis, sarcoidose, úlcera vascular e neoplasias cutâneas (MEDEIROS; ROSELINO, 1999).

A LCDis é uma forma rara, ocorrendo em média em 2% dos casos. Caracteriza-se pelo aparecimento de múltiplas pápulas de aparência acneiforme, acometendo vários segmentos corporais (TURETZ et al., 2002).

A LCDif é rara até nos países em que a doença é endêmica. Os pacientes com essa forma da doença apresentam uma anergia específica aos antígenos de *Leishmania*, embora a proliferação de linfócitos e a resposta a outros parasitas intracelulares permaneçam intactas (FRANÇA-COSTA et al., 2015). Apresenta-se com máculas eritemato-violáceas, nódulos e placas não ulceradas com grande quantidade de amastigotas. Lembra clinicamente a hanseníase virchowiana (COSTA et al., 1992).

Na LCM o parasita tem a capacidade de metastatizar para tecidos mucosos por via linfática ou hematogênica. Em geral, começa com inflamação nasal, evoluindo para ulceração

e perfuração do septo nasal. Em alguns casos, lábios, palato mole, faringe, laringe também podem estar envolvidos. De maneira amena esta forma da doença ocorre em aproximadamente 5% dos casos, embora, no Brasil, a incidência tenha aumentado nos últimos anos (AMATO et al., 2008; REITHINGER et al., 2007). Na maioria das áreas endêmicas, 1-10% dos casos de LCL evoluem para LCM em 1-5 anos depois da cura (DAVIES *et al.*, 2000).

2.3 Diagnóstico da leishmaniose cutânea

A LC produz um amplo espectro de lesões, o que torna o diagnóstico clínico nem sempre simples ou imediato. O diagnóstico diferencial com outras doenças se faz necessário, visto que a LC pode mimetizar outras doenças infecciosas, como hanseníase, micoses cutâneas profundas, sífilis, tuberculose cutânea, uma variedade de neoplasias da pele e úlceras vasculares (HANDLER *et al.*, 2015). Em regiões nas quais exames complementares não estão disponíveis, o diagnóstico clínico e epidemiológico pode ser realizado, especialmente se o paciente procede de áreas endêmicas. Entretanto, sempre que possível os exames complementares devem ser realizados, para que erros no diagnóstico não ocorram e o paciente não seja submetido a terapias desnecessárias (BRASIL, 2010).

O diagnóstico laboratorial da LC pode ser realizado mediante exames parasitológicos, provas imunológicas e métodos de biologia molecular. Nos exames parasitológicos busca-se a evidenciação do parasito por meio de exames direto e indireto com a finalidade de confirmar a causa da doença (BAILEY; LOCKWOOD, 2007). A associação de dois ou mais exames complementares promove uma melhor validade no diagnóstico de LC.

O diagnóstico de certeza da LC somente é obtido por meio da demonstração do parasito por métodos parasitológicos de pesquisa direta e indireta. Geralmente o primeiro exame a ser realizado é a pesquisa direta das formas amastigotas em material obtido por meio de escarificação, aspiração ou biópsia da borda da lesão e corado pelo Giemsa ou Leishman. Mostra percentuais de positividade inversamente proporcionais à duração da infecção (URJEL *et al.*, 1983). A especificidade é de 100% e sensibilidade nos casos produzidos por *L. braziliensis* varia entre 64 a 80%, dependendo da qualidade técnica (MASMOUDI *et al.*, 2013). Além do exame direto, a leishmania pode ser isolada em cultivo *in vitro* no meio NNN, crescendo relativamente bem entre 24°C e 26°C, entretanto é propenso à contaminação e bastante demorado (CUBA CUBA *et al.*, 1986; GONTIJO; DE CARVALHO, 2003).

Embora 100% específico, apresenta uma baixa sensibilidade, girando em torno de 50% (MASMOUDI *et al.*, 2013; FABER *et al.*, 2003).

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) é um marcador de resposta imune celular, sendo de grande valor presuntivo no diagnóstico da LC, constituindo valioso recurso nos casos em que os parasitos estão escassos ou ausentes (SKRABA *et al.*, 2015). É bastante útil nos inquéritos epidemiológicos de prevalência em áreas endêmicas, por causa do seu uso simples e da sua elevada sensibilidade entre 86,4 % até 100%, entretanto, o teste é positivo durante a doença e após a cura, não diferenciando doença atual de pregressa. Além disso, pode ser negativo na forma difusa e nos pacientes imunossuprimidos e ser falso positivo pela alta incidência de leishmaniose visceral em nosso meio (ANTONIO *et al.*, 2014; PASSOS *et al.*, 2000).

O exame histopatológico é realizado a partir de material colhido por biópsia da borda da lesão e seu resultado depende, em grande parte, do estágio de desenvolvimento da doença (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015). Lesões agudas apresentam um infiltrado dérmico denso de histiócitos parasitados, linfócitos, plasmócitos e variável número de neutrófilos. Com a cronicidade, granulomas tuberculóides aumentam, em detrimento da redução dos histiócitos parasitados e do infiltrado. A epiderme pode mostrar ulceração, microabscessos de neutrófilos, acantose ou atrofia, dependendo do estágio da lesão e do local onde foi realizada a biópsia. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa pode estar presente, particularmente na periferia de algumas lesões (VIANA *et al.*, 2013).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é o método padrão-ouro no diagnóstico da LC, podendo apenas detectar a presença do parasita ou ser capaz de identificar a espécie causadora da infecção. A PCR é um método com sensibilidade entre 84 e 100% e especificidade em torno de 100% (ANDRADE *et al.*, 2011; FAGUNDES *et al.*, 2010). No entanto, os elevados custos e a necessidade de equipamento apropriado e pessoal qualificado ainda impedem que a PCR seja implantada nas áreas endêmicas. No caso da LC causada por *L. braziliensis*, a escassez de parasitos na lesão é um dos marcos da infecção, o que torna a confirmação parasitológica ainda mais difícil, valorizando ainda mais a importância dessa técnica (DE OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Os testes sorológicos geralmente utilizados são a imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) e o Western blotting, que detectam anticorpos e são de grande utilidade no diagnóstico de formas clínicas com lesões extensas, múltiplas e nas lesões mucosas primárias e secundárias. Entretanto, apresentam reações cruzadas com leishmaniose

visceral e doença de Chagas (BRITO *et al.*, 2000; MATOSSIAN; KURBAN; MALAK, 1975).

2.4 Tratamento convencional da leishmaniose cutânea

Apesar de vários esforços dedicados na tentativa de desenvolvimento de novas drogas para o tratamento da LC, há várias décadas, são utilizados como droga de primeira escolha, os antimoniais pentavalentes. Há, comercialmente disponíveis, o antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®) e o estibogluconato de sódio (Pentostam ®) (ALMEIDA; SANTOS, 2011; MONGE-MAILLO; LÓPEZ-VÉLEZ, 2013). O Ministério da Saúde do Brasil recomenda de 10 a 20 mg/Kg/dia de Glucantime ® intravenoso ou intramuscular, por um período de 20 dias, no tratamento das formas cutâneas. Caso não haja cicatrização completa três meses após o término do tratamento, o esquema deverá ser repetido por um período de 30 dias. Persistindo o insucesso terapêutico, deve ser utilizada uma das drogas de segunda linha (BRASIL, 2010).

Figura 4 – Esquema terapêutico para Leishmaniose Tegumentar Americana

Forma Clínica	Dose	Tempo mínimo de duração
Leishmaniose Cutânea	10-20mg/Sb ⁺⁵ /Kg/dia (Recomenda-se 15mg/ Sb ⁺⁵ /Kg/dia)	20 dias
Leishmaniose Difusa	20mg/Sb ⁺⁵ /Kg/dia	20 dias
Leishmaniose Mucosa	20mg/Sb ⁺⁵ /Kg/dia	30 dias

Fonte: Brasil (2010).

Um dos grandes problemas em relação ao uso dos antimoniais pentavalentes são seus efeitos colaterais. Os principais incluem artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, sensação de plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, prurido, febre, fraqueza, cefaléia, tontura, insônia, palpitação, edema, hepatite com aumento de transaminases e fosfatase alcalina, insuficiência renal aguda (IRA), pancreatite e alterações dose-dependentes no eletrocardiograma, tais como alteração da repolarização ventricular com inversão do segmento ST, aumento do intervalo QT, alterações isquêmicas e extrassístoles bigeminadas, polimorfas e polifocais (HENDERSON; JOLLIFFE, 1985; HEPBURN *et al.*, 1994; TUON *et al.*, 2008). Arritmias fatais são raras, existindo poucos casos de morte súbita, provavelmente relacionados a arritmias ventriculares (LIMA *et al.*, 2007). Essas reações são mais acentuadas

em idosos, devendo a droga ser usada com cautela em pacientes acima de 50 anos (DINIZ; COSTA; ESCALDA, 2012).

Figura 5 – Efeitos colaterais do Antimoniato de n-metilglucamina (Glucantime®)

Efeitos Colaterais					
Artralgia	Mialgia	Anorexia	Náuseas	Vômitos	Plenitude gástrica
Epigastralgia	Pirose	Dor abdominal	Pancreatite	Prurido	Febre
Fraqueza	Cefaléia	Tontura	Palpitação	Insônia	Nervosismo
Choque pirogênico	IRA	Arritmias	Síncope	Morte súbita	

Fonte: Brasil (2010).

Outra desvantagem dessa classe de drogas é que são contraindicadas em gestantes, lactantes, pessoas com hipersensibilidade à droga e pacientes com doenças crônicas graves (cardiopatias, hepatopatias, nefropatias) (ALMEIDA; SANTOS, 2011). O índice de sucesso com o esquema descrito é muito variável na literatura, variando de 60 a 90%, segundo diferentes autores e em estudos conduzidos em diferentes locais e serviços (NAME *et al.*, 2005; SOTO *et al.*, 2005; TUON *et al.*, 2008). Vale enfatizar que, mesmo com o tratamento adequado com antimonial, as recidivas ou o comprometimento de mucosas podem ocorrer, sendo de 2% nos casos tratados e ao redor de 10% nos casos não tratados (BAILEY; LOCKWOOD, 2007). A resistência aos antimoniais por algumas espécies de *Leishmania* no Velho Mundo aparece como outro problema que vem aumentando (HADIGHI *et al.*, 2006, 2007; OUELLETTE; DRUMMELSMITH; PAPADOPOULOU, 2004), embora esse fato não tenha sido observado no Brasil. O curso prolongado do tratamento e o fato das aplicações serem múltiplas e dolorosas levam o paciente a abandoná-lo, fazendo com que a baixa adesão ao tratamento possa ser uma das principais causas do surgimento de cepas resistentes à terapêutica convencional.

O uso de medicamentos de segunda linha como a anfotericina B e a pentamidina é indicado nos casos de resistência ou impossibilidade de uso do antimoniato de N-metilglucamina (BRASIL, 2010). Porém, apresentam a limitação do alto custo e da necessidade de serviços de maior complexidade para sua administração, bem como efeitos adversos frequentes e graves (NEVES *et al.*, 2011; RIBEIRO DE PAULA *et al.*, 2003).

Figura 6 – Apresentação, forma de administração e efeitos colaterais da Anfotericina B

Desoxicolato de Anfotericina B	
Apresentação	Frasco com 50mg
Dose e via de aplicação	Início 1 mg/Kg/dia EV (máx 50mg/dose) Dose total: Forma Cutânea: 1-1,5 g Forma Mucosa: 2,5-3 g
Efeitos Colaterais	Febre Cefaléia Náuseas Vômitos Anorexia Tremores Calafrios Flebite Cianose Hipotensão Anemia Leucopenia Hipopotassemia Hipomagnesemia Alterações Cardíacas Comprometimento da função renal Distúrbios do comportamento
Contraindicações	Cardiopatias Hepatopatias Nefropatias

Fonte: Brasil (2010).

Figura 7 – Apresentação, forma de administração e efeitos colaterais da Anfotericina B lipossomal

Anfotericina B Lipossomal	
Apresentação	Frasco com 50mg
Dose e via de aplicação	Dose 1-4 mg/Kg/dia EV Dose total: Forma Cutânea: 1-1,5 g Forma Mucosa: 2,5-3 g
Efeitos Colaterais	Febre Cefaléia Náuseas Vômitos Tremores Calafrios Flebite Dor Lombar

Fonte: Brasil (2010).

Figura 8 – Apresentação, forma de administração e efeitos colaterais da Pentamidina

Pentamidina	
Apresentação	Frasco de isotionato de pentamidina com 300mg
Dose e via de aplicação	Dose 4 mg/Kg/dia IM profundo de 2/2 dias Dose total: 2 g
Efeitos Colaterais	Dor Induração Abscessos Náuseas Vômitos Tontura Adinamia Mialgias Cefaléia Hipotensão Lipotímias Síncope Hipoglicemia Hiperglicemia
Contraindicações	Gestates Diabetes Nefropatias Hepatopatias Cardiopatias Peso < 8 Kg

Fonte: Brasil (2010).

2.5 Tratamentos locais

A aplicação de antimoníato pentavalente intralesional tem sido usada como medida para diminuir os custos e os efeitos colaterais associados com as terapias IM ou IV. No Novo Mundo, esse tratamento ainda não é oficialmente recomendado devido à possibilidade de disseminação da doença. Em estudo realizado no Brasil, área endêmica de *L. braziliensis*, foi encontrada uma taxa de cura de 79,7% 12 semanas depois da aplicação intralesional da droga. Não houve recidivas ou desenvolvimento de lesões mucosas depois de 10 anos de seguimento (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1997).

A paramomicina em creme associada ou não a outros tópicos, como cloreto de metilbenzoato e gentamicina tem sido estudada no tratamento da LC mostrando 70-90% de eficácia (BEN SALAH *et al.*, 2013; SOTO *et al.*, 1998). Em Israel, a anfotericina B tópica tem sido usada com eficácia em torno de 64% (VARDY; BARENHOLZ; COHEN; ZVULUNOV; BITON; KLAUS, 1999). O imiquimode tópico aplicado três vezes ao dia por oito semanas foi usado com sucesso para tratar paciente que não havia respondido a anfotericina B lipossomal (HERVÁS *et al.*, 2012). Em estudo randomizado, duplo-cego, o

iniquimode tópico associado ao antimoniato sistêmico foi usado com eficácia de 72% em 40 pacientes que não haviam respondido ao antimonial pentavalente como monoterapia (MIRANDA-VERÁSTEGUI *et al.*, 2005).

2.6 Termossensibilidade da *Leishmania*

Historicamente, a aplicação de calor local tem sido usada para tratar lesões de LC. Em comunidades rurais da América do Sul e da África, o uso empírico de materiais cáusticos como nitrato de prata, pólvora, açúcar marrom, óleo, solução de bateria ou a cauterização das lesões com pingo de vela ou objetos de metais aquecidos, como colheres e garfos, é muito comum (FOLLADOR *et al.*, 1999; MOREIRA *et al.*, 2002; NETTO *et al.*, 1985).

Em estudo realizado em regiões rurais do Equador foram identificados diversos métodos alternativos de tratamentos como cauterização das lesões com aplicação de cáusticos, produtos derivados do petróleo, metais pesados, produtos veterinários e preparações de plantas e ervas medicinais. Muitos desses tratamentos foram descritos pelos participantes da pesquisa como “quentes” ou “fortes”, uma vez que causavam intenso ardor e dor. Segundo eles, o aquecimento das lesões aumentava suas chances de cura (WEIGEL; ARMIJOS, 2001).

Estudos laboratoriais demonstraram que espécies de *Leishmania* que causam doença cutânea, não conseguem se multiplicar no interior dos macrófagos em temperaturas acima de 39° C e que a termossensibilidade é especialmente pronunciada para *L. braziliensis* e *L. mexicana*. Esses trabalhos sugerem que existe uma fase de crescimento e sobrevivência desses parasitos que é termossensível (BERMAN; NEVA, 1981; SACKS; BARRAL; NEVA, 1983).

Essas observações impulsionaram o uso da termoterapia com banhos quentes (NEVA *et al.*, 1984), luz infravermelha (JUNAID, 1986), estimulação elétrica direta (SHARQUIE; AL-HAMAMY; EL-YASSIN, 1998), laser (SHAMSI MEYMANDI *et al.*, 2011) e terapia fotodinâmica (BARBOSA *et al.*, 2012) para tratar lesões de LC.

2.7 Termoterapia com radiofrequência

A terapia com radiofrequência tem vantagens distintas de outros métodos locais de tratamento. O calor produzido pelas ondas de radiofrequência penetra uniformemente por uma profundidade de 4 mm, de modo que a derme superior, onde as amastigotas de *Leishmania* se

localizam, pode ser aquecida a altas temperaturas sem injúria na pele ao redor. Além disto, ondas de radiofrequência podem ser produzidas por aparelhos portáteis. O primeiro estudo da sua eficácia foi realizado na Guatemala com 66 pacientes com leishmaniose cutânea por *L. braziliensis* e *L. mexicana* que foram randomizados e demonstrou uma proporção de 73% de cura, a mesma dos pacientes tratados com antimônio pentavalente sistêmico (NAVIN *et al.*, 1990). Entretanto, em dois estudos randomizados, também comparando a termoterapia com o antimônio pentavalente sistêmico, realizados na Colômbia, o percentual de cura foi menor, em torno de 60%, mas com a vantagem do menor custo e menos efeitos adversos da termoterapia com radiofrequência. Um deles randomizou 292 pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea por *L. panamensis* e *L. braziliensis* em dois grupos, o da termoterapia e o do antimônio sistêmico. Nesse estudo, não houve diferença estatística em relação às espécies na resposta ao tratamento efetuado. O outro randomizou 130 pacientes com leishmaniose cutânea causada especialmente por *L. guyanensis* para receber o tratamento convencional e a termoterapia (LÓPEZ *et al.*, 2012; VEGA *et al.*, 2009).

Vários ensaios clínicos randomizados compararam a termoterapia com outras alternativas terapêuticas. Um estudo randomizado controlado realizado no Afeganistão para tratar casos de leishmaniose cutânea por *L. tropica* envolvendo 401 pacientes demonstrou eficácia de 69,4%, quando comparado ao antimônio intralesional (75,3%) e ao antimônio intramuscular (44,8%) (REITHINGER *et al.*, 2005). Mais tarde, estudo randomizado controlado realizado no Irã com 117 pacientes, mostrou a superioridade da termoterapia com radiofrequência (80,7%), quando comparada ao antimônio intralesional (55,3%) (SADEGHIAN; NILFROUSHZADEH; IRAJI, 2007). Outro estudo randomizado controlado feito para tratar leishmaniose cutânea por *L. major* em 54 soldados americanos vindos do Irã e do Kuwait obteve cura similar entre a termoterapia (48%) e o antimônio pentavalente endovenoso (54%), mas com muito menos efeitos colaterais da termoterapia (ARONSON *et al.*, 2010). Um recente estudo realizado na Índia, com 100 pacientes randomizados em dois grupos, mostrou eficácia elevada tanto da termoterapia com radiofrequência como do antimônio intralesional após 12 semanas de seguimento (BUMB *et al.*, 2013). A eficácia e a segurança da miltefosina foi comparada a da termoterapia em estudo randomizado controlado com 294 pacientes com leishmaniose cutânea causada por *L. panamensis* e *L. braziliensis* realizado na Colômbia. Não houve diferença estatística entre os dois tratamentos, que demonstraram proporção de cura em torno de 70%. Também não houve diferença estatística significativa de resposta ao tratamento em relação às espécies causadoras da doença. Entretanto, o número de efeitos colaterais relatados com a miltefosina foi maior (LÓPEZ *et*

al., 2013).

No Brasil, um estudo realizado com pacientes com leishmaniose cutânea por *L.braziliensis* na Bahia comparou a resposta inflamatória sistêmica por meio da dosagem de citocinas inflamatórias após realização de termoterapia por radiofrequência e após o tratamento convencional com o antimonial pentavalente e demonstrou que em ambos houve uma diminuição de citocinas inflamatórias (IFN- γ , IL-5 e TNF- α) após 28 dias do tratamento, sem diferença estatística entre eles. Não se sabe, entretanto, se essa alteração na resposta inflamatória é resultado direto da termoterapia e do medicamento sistêmico, ou resulta do processo de cicatrização estimulado pelos tratamentos efetuados. Também foi observado que, em um paciente com somente uma de duas lesões tratadas com termoterapia por radiofrequência, a lesão que não foi tratada, evoluiu para cicatrização (LOBO *et al.*, 2006).

Esse efeito da terapia em cicatrizar lesões à distância não tratadas pode ser explicado pelas alterações inflamatórias sistêmicas que ocorrem. Após a aplicação da terapia com calor há um declínio significativo nas células T circulantes e nas células T NK-like (*natural killer-like*), acompanhado por uma expansão nas células NK (*natural killer*). Uma queda na proliferação celular antígeno específico T CD4⁺ também é vista, assim como uma depleção de células T CD8⁺. Além disso, o período de cicatrização foi caracterizado por uma diminuição nas células T regulatórias circulantes, redução na produção de IFN- γ e uma contração nos linfócitos T *helper* CD4⁺ polifuncionais (LAKHAL-NAOUAR *et al.*, 2015).

Apesar dos estudos realizados excluïrem pacientes imunossuprimidos, existe relato de caso de paciente HIV com leishmaniose cutânea que não respondeu bem ao tratamento efetuado com antimoniato intralesional e foi tratado com uma única sessão de termoterapia com radiofrequência com boa resposta (PRASAD *et al.*, 2011), demonstrando que, nesses casos de imunossupressão ou contraïndicações à terapia convencional, a termoterapia possa ser uma alternativa satisfatória.

A realização do presente estudo justifica-se na importância de se estudar novas opções terapêuticas para a leishmaniose cutânea que tenha poucos efeitos colaterais, baixa toxicidade, boa tolerância, seja de fácil aplicação, tenha tempo de tratamento reduzido e com custo acessível. Dessa forma, a adesão ao tratamento por parte dos pacientes aumentará e haverá uma diminuição nos riscos advindos com as terapias tradicionalmente realizadas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Descrever a resposta à termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose cutânea.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a segurança da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose cutânea;
- Avaliar a tolerabilidade da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose cutânea.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella (IDTNP) em Teresina, Piauí, Brasil, hospital geral da Secretaria Estadual de Saúde, conveniado com a Universidade Federal do Piauí (UFPI). O IDTNP é referência no atendimento de doenças infecciosas e parasitárias no estado do Piauí e em algumas cidades de estados vizinhos, especialmente o estado do Maranhão. Possui infraestrutura para diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas mais prevalentes. Conta ainda com um laboratório de pesquisas em leishmanioses capacitado para realizar técnicas de parasitologia e biologia molecular.

4.2 Considerações éticas

O estudo foi realizado seguindo as diretrizes da Resolução do Conselho Nacional de Saúde-CNS 466/12, que regulamenta pesquisas em seres humanos no Brasil. O estudo foi aprovado sob o número 1.015.779 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI (Anexo A). Todos os pacientes incluídos no estudo, ou seus responsáveis, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndices A, B e C). Os riscos adicionais pela participação na pesquisa foram explicados aos voluntários que aceitaram participar. Os principais riscos abordados foram a possibilidade de insucesso no tratamento realizado e de recidiva da doença. Os participantes da pesquisa não receberam benefícios diretos pela sua participação, no entanto podem ter se beneficiado indiretamente por meio da atenção e agilidade no diagnóstico e tratamento.

4.3 Delineamento do estudo

4.3.1 Desenho do estudo

Foi conduzido um ensaio clínico aberto não comparativo.

4.3.2 População de estudo

Foram elegíveis para o estudo um total de 15 pacientes com diagnóstico de LC atendidos entre abril e setembro de 2015.

4.3.3 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico clínico-epidemiológico de LC e teste cutâneo de Montenegro positivo associados a pelo menos um dos seguintes exames complementares: demonstração do parasito por pesquisa direta na lesão ou por cultura (meio Novy-MacNeal-Nicole (NNN – agar sangue modificado), ou por exame histopatológico sugestivo (presença de amastigotas na biópsia de pele) ou por reação em cadeia da polimerase (PCR).

4.3.4 Critérios de exclusão

Pacientes que apresentaram lesões em mucosas oral ou nasal, mais de dez lesões cutâneas, lesões de LC com distância menor que dois cm da órbita, lesões localizadas no nariz, lábios, olhos, orifício urogenital ou anal ou adjacentes a esses locais e pacientes imunossuprimidos foram excluídos do estudo.

4.3.5 Mensuração da exposição

Os pacientes com suspeita clínica de leishmaniose cutânea foram submetidos a realização de exames complementares para confirmação do diagnóstico clínico de LC. O teste cutâneo de Montenegro foi aplicado na superfície medial do antebraço e a reação mensurada 48 horas depois. As lesões foram fotografadas e seu tamanho vertical e horizontal mensurado com régua em milímetros. Também foi realizada uma biópsia da lesão e o fragmento utilizado para análise histopatológica, pesquisa direta, cultura e PCR. Quando as lesões apresentaram infecção secundária, foram tratadas previamente com cefalosporina de primeira geração (cefalexina).

4.3.5.1 Teste cutâneo de Montenegro

O teste de Montenegro foi realizado com a injeção intradérmica de 0,1 ml do antígeno na face anterior do antebraço direito de todos os pacientes. A leitura foi realizada 48 horas após aplicação e o tamanho da reação foi mensurado. O teste foi considerado positivo quando a induração media 5 mm ou mais de diâmetro. O material usado no teste foi extrato solúvel de antígeno de promastigotas de *L. (V.) braziliensis* (COSTA *et al.*, 1996).

4.3.5.2 Exame histopatológico

A biópsia de pele foi realizada na borda da lesão após assepsia e anestesia local com lidocaína a 2% por meio de punch de 4mm ou 5 mm dependendo do tamanho da lesão. O fragmento de pele obtido foi colocado em formol e enviado para análise histopatológica por patologista experiente.

4.3.5.3 Pesquisa direta

Foi realizado por meio de delicada compressão de fragmento de tecido, obtido após biópsia da lesão, sobre uma lâmina de vidro (*imprint*). Após a confecção do esfregaço, as lâminas foram coradas pelo Giemsa e observadas no microscópio ótico para pesquisa de formas amastigotas.

4.3.5.4 Cultura

O fragmento obtido por biópsia foi inoculado em meio de cultivo NNN – Neal, Novy e Nicole (agar sangue modificado) e incubado entre 24°C e 26°C. As culturas foram mantidas por 30 dias sob observação antes da liberação do resultado negativo.

4.3.5.5 Diagnóstico molecular

A investigação para detecção de DNA de *Leishmania* nas amostras de biópsia de pele foi feita por meio da PCR convencional. O material coletado na biópsia estava congelado em microtubos de centrifugação de 2 mL.

Utilizou-se o protocolo de extração de DNA de tecido com o método Fenol-Clorofórmio-Álcool Isoamílico.

Realizou-se uma PCR convencional para identificação de *Leishmania sp.* com primers 150/152 (10 uM de primer 150 Forward e 10 mM de primer reverse 152) para um volume final de 10 uL, utilizando-se 200 uM de dNTPs, substituindo dTTP por dUTP para evitar anelamentos inespecíficos (mix dNTP's 12,5 uM: dUTP, dATP, dCTP); 0,8 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, São Paulo, Brasil), tampão (10 mM de Tris HCl de pH = 8,6), MgCl₂ (50 mM) e 1 uL de DNA da amostra a ser investigada (Anexo B).

As condições da reação em cadeia no termociclador foram:

- Desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos;
- 35 ciclos de:
 - Desnaturação intermediária a 94°C por 45 segundos,
 - Hibridização/anelamento a 59°C por 45 segundos;
 - Extensão intermediária a 72°C por 30 segundos
- Extensão final a 72°C por 7 minutos, em um total de 35 ciclos.

4.3.5.6 Triagem do vírus da imunodeficiência adquirida

A triagem para o vírus da imunodeficiência humana-HIV foi realizada em todos os pacientes do estudo após orientação pré-teste e obtenção do consentimento verbal e seguiu as diretrizes propostas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1999).

4.3.5.7 Exames complementares gerais

Exames laboratoriais gerais como hemograma completo, função renal e função hepática foram realizados em todos os pacientes.

4.3.5.8 Intervenção

Após assepsia das lesões com povidine e anestesia local com lidocaína 2% sem vasoconstrictor utilizando seringa com agulha de calibre 26G 1/2 (insulina), uma sessão de tratamento foi realizada utilizando o aparelho de radiofrequência portátil ThermoMed Model 1.8 (Thermosurgery Technologies, Inc., Phoenix, AZ, USA) conforme instruções do fabricante. Antes da aplicação, a ponteira do aparelho era colocada na borda da lesão em direção ao centro e a aquecendo numa temperatura de 50°C por 30 segundos, e depois o aplicador era movido para a área adjacente até a lesão ser completamente coberta. O tamanho da lesão determinava o número de aplicações e o tempo gasto na sessão.

Depois de selecionada a temperatura desejada para o tratamento (50° C), a máquina regula a energia e mantém a temperatura selecionada. Por meio do visor digital é possível detectar a temperatura atingida na pele. A máquina emite um bipe a cada dois segundos e um sinal sonoro mais forte após o término do tempo selecionado, indicando quando o tratamento planejado chegou ao fim, sem a necessidade de ficar olhando para a máquina. A aplicação produz um eritema local, de modo que é possível identificar quais áreas da lesão já foram tratadas e quais não foram. O aparelho é leve e funciona por meio de baterias recarregáveis, tornando possível seu uso em áreas rurais ou sem eletricidade.

Figura 9 – Aparelho de radiofrequência Thermomed modelo 1.8



Fonte: Autora (2016).

O funcionamento ocorre quando os eletrodos são aplicados sobre a pele, gerando calor com a passagem das ondas de radiofrequência entre os dois eletrodos e atinge uma área de cerca de 3 x 4 mm.

Após o tratamento, os pacientes foram orientados a cobrir a lesão com gaze e aplicar creme de ácido fusídico por sete dias, para evitar infecção secundária. O seguimento dos pacientes foi realizado com 15 dias, 30 dias, 90 dias e 180 dias. Entretanto, foram orientados a retornar em caso de intercorrência. Fotografias foram feitas antes do tratamento e em todos os retornos.

Quando o paciente apresentava mais de uma lesão, a aplicação era inicialmente realizada apenas na maior. Se, após 30 dias da aplicação, as demais lesões não demonstrassem sinais de cicatrização, a termoterapia com radiofrequência também era aplicada nas demais lesões.

4.3.6 Mensuração do desfecho

A cura clínica foi definida como completa epitelização, regressão total da infiltração e do eritema, e cicatrização visível até três meses após a aplicação do tratamento. Entretanto, nos casos com evidência de cicatrização progressiva das lesões, sem cumprir completamente com os critérios acima, o período de observação foi prolongado para seis meses. A cura definitiva foi considerada quando não houve recorrência após seis meses da aplicação do tratamento.

Os pacientes que não responderam a essa terapia foram tratados com antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime®) na dose de 20 mg/Sb⁺⁵/Kg/dia por 20 dias conforme recomendação do Ministério da Saúde, Brasil (BRASIL, 2010).

4.4 Análise estatística

Os dados coletados foram transportados para o programa Microsoft Windows Excel 2010® e foram processados e analisados por meio do programa estatístico Stata/SE® 14.1 for Windows (*College Station, Texas, USA*) com o qual foi realizada uma análise de distribuição de frequência e cálculo do intervalo de confiança de 95%. O programa Microsoft Windows Excel 2010® também foi usado para a construção das tabelas.

5 RESULTADOS

Um total de 15 pacientes participou do estudo no período de abril a setembro de 2015. Todos os pacientes tiveram o diagnóstico confirmado por pelo menos um dos métodos complementares realizados. A maioria dos pacientes procedia de Teresina ou municípios do Piauí. Os demais pacientes eram de cidades do estado do Maranhão e do Pará (Tabela 1). As características demográficas e clínicas dos pacientes são apresentadas na tabela 2.

Tabela 1 – Procedência dos pacientes (n=15)

Estado	n	%
Piauí	10	66,7%
Maranhão	4	26,7%
Pará	1	6,6%

n = número de casos. % = frequência relativa.

Tabela 2 – Características demográficas e clínicas dos pacientes (n=15)

Idade (anos)	Média ± DP	43,47 ± 20,97
Sexo	Masculino n (%)	9 (60,0%)
	Feminino n (%)	6 (40,0%)
Nº de lesões	Uma lesão n (%)	8 (53,3%)
	Duas lesões n (%)	6 (40,0%)
	Três lesões n (%)	1 (6,7%)
História familiar de leishmaniose	n (%) sim	5 (33,3%)
	n (%) não	10 (66,7%)
Infecção secundária	n (%) sim	5 (33,3%)
	n (%) não	10 (66,7%)
Linfonomegalia	n (%) sim	1 (6,7%)
	n (%) não	14 (93,3%)

DP = desvio padrão. n (%) = número de casos (frequência relativa). mm = milímetros.

A média de idade dos pacientes foi de 43 anos (mediana 47 anos), com idade mínima de 16 anos e máxima de 79 anos, sendo 60% dos pacientes do sexo masculino. Mais da metade dos pacientes apresentava somente uma lesão e apenas um paciente apresentava três lesões. Nenhum dos pacientes tinha história pessoal de leishmaniose, entretanto cinco pacientes referiram que algum familiar já havia apresentado a doença. Infecção secundária foi

notada antes do tratamento em cinco pacientes e foi devidamente tratada com cefalexina oral antes da aplicação do tratamento.

Em relação aos exames complementares realizados, seus resultados estão contemplados na tabela 3.

Tabela 3 – Exames complementares dos pacientes

Teste de Montenegro (mm)	Média ± DP	10,70 ± 1,99
Exame direto	n (%) sim	6 (75,0%)
	n (%) não	2 (25,0%)
Cultura	n (%) sim	2 (25,0%)
	n (%) não	6 (75,0%)
Amastigotas na biópsia	n (%) sim	9 (60,0%)
	n (%) não	6 (40,0%)
PCR	n (%) sim	15 (100,0%)
	n (%) não	0 (0,0%)

n (%) = número de casos (frequência relativa). PCR= reação em cadeia da polimerase.mm = milímetros.

O teste de Montenegro foi realizado em todos os pacientes e a média dos dois dígitos do resultado do teste nos pacientes foi de 10,7 mm. O exame direto e a cultura foram realizados somente em oito pacientes por problemas técnicos operacionais. O exame direto foi positivo em seis (75%) pacientes. A cultura foi positiva para *Leishmania sp* em apenas dois (25%) dos oito pacientes nos quais esse exame foi realizado. O diagnóstico parasitológico foi confirmado por meio do exame histopatológico em 60% dos pacientes pela presença de amastigotas. Os demais pacientes apresentavam anatomopatológico sugestivo de leishmaniose cutânea. Entre as alterações encontradas as mais comuns foram dermatite crônica granulomatosa com hiperplasia pseudoepiteliomatosa na epiderme e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Todos os pacientes incluídos no estudo tiveram a PCR positiva para *Leishmania sp*.

Um total de 23 lesões foi avaliado e dessas, a maioria eram úlceras (56,5%), seguidas de placas (21,8%), pápulas (13,0%) e nódulos (8,7%). Em relação à localização das lesões, a maioria estava localizada nos membros inferiores (60,9%), 30,4% nos membros superiores e 8,7% na cabeça. A média de duração das lesões informada pelos pacientes foi em torno de três meses (Tabela 4).

Tabela 4 – Características das lesões (n=23)

	Descrição	N	%	Mediana ± IQ
Tipo de lesão	Pápula	3	13,0%	
	Placa	5	21,8%	
	Nódulo	2	8,7%	
	Úlcera	13	56,5%	
	MMSS	7	30,4%	
Localização das lesões	MMII	14	60,9%	
	Cabeça	2	8,7%	
Duração das lesões (meses)				3,0 ± 2,0
Área das lesões (mm ²)				300 ± 350

n= frequência. (%) = frequência relativa. IQ= intervalo interquartil. MMSS = membros superiores. MMII = membros inferiores.

Todos os pacientes retornaram nas visitas e não houve perda de seguimento. A cura completa foi observada em 13 pacientes (86,67% IC95%: 54,6% a 97,2%) (Tabela 5). Nenhum dos pacientes que tiveram cicatrização completa das lesões apresentou recidiva das lesões no período de seis meses de acompanhamento.

Tabela 5 – Percentual de cura dos pacientes tratados com termoterapia

Número de aplicações	Nº de pacientes tratados	Nº (%) de pacientes curados	IC (95%)
Uma aplicação	10	9 (90,0%)	
Duas aplicações (uma em cada lesão)	4	3 (75,0%)	
Três aplicações (uma em cada lesão)	1	1 (100,0%)	
Total	15	13 (86,7%)	54,6% a 97,2%

n = frequência. (%) = frequência relativa. IC (95%) = intervalo de confiança de 95% para a média.

Dos sete pacientes que tinham mais de uma lesão, somente dois apresentaram cicatrização das lesões que não foram tratadas (Figura 10). Cinco necessitaram da aplicação da termoterapia por radiofrequência nas demais lesões, e não somente na maior lesão. Isso ocorreu porque, após 30 dias da aplicação inicial, as lesões menores adjacentes não apresentaram sinais de evolução para cicatrização e algumas delas inclusive aumentaram de tamanho (Figura 11).

Figura 10 – Antes e depois do tratamento com termoterapia (somente a lesão maior foi tratada)



Figura 11 – Antes e depois do tratamento com termoterapia (as duas lesões foram tratadas)



Uma paciente que não obteve cura após seis meses de acompanhamento se recusou a receber a terapia sistêmica com antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime®) e evoluiu com boa resposta e com completa cicatrização de suas duas lesões após três meses da nova sessão de termoterapia por radiofrequência (Figura 12). Se for levado em consideração que essa paciente acabou evoluindo para cicatrização completa de suas lesões, esse percentual de cura dos pacientes sobe para 93,3% (IC 95% 68,0 a 99,8%). O outro paciente que foi considerado como falha terapêutica teve redução de sua úlcera em aproximadamente 75%,

mas não obteve uma completa reepitelização da pele para ser considerado completamente curado. Esse paciente foi tratado com antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime®) (Figura 13).

Figura 12 – Antes e depois do tratamento com termoterapia. A paciente apresentou completa reepitelização somente após a segunda sessão



Figura 13 – Antes e depois do tratamento com termoterapia. O paciente não apresentou completa reepitelização de sua lesão



Do total de 23 lesões, somente 15 foram tratadas inicialmente. Após 30 dias, as lesões foram reavaliadas e somente duas (25%) das oito lesões não tratadas evoluíram para cura sem necessidade de receber aplicação da termoterapia. Sendo assim, das 21 lesões tratadas, 18 evoluíram para cura após o tratamento (85,7% IC 95% 63,7% a 97,0%) (Tabela 6).

Tabela 6 – Percentual de cura por pacientes e lesões após tratamento com termoterapia

Análise do tratamento	Total	Cura (%)	IC 95%
Por paciente	15	13 (86,7%)	54,6% a 97,2%
Por lesão*	21	18 (85,7%)	63,7% a 97,0%

(%) = frequência relativa. IC (95%) = intervalo de confiança de 95% para a média.

*Duas lesões evoluíram para cura sem necessidade de tratamento e não foram incluídas na tabela

Os principais efeitos colaterais descritos pelos pacientes foram prurido, ardência e dor. Apenas um dos pacientes desenvolveu bolhas no local da aplicação (Figura 14). Sete pacientes negaram qualquer efeito colateral. Não foi observada infecção secundária após a aplicação do tratamento (Tabela 7).

Tabela 7 – Efeitos adversos observados após a termoterapia com radiofrequência

Efeitos adversos	n (%)
Dor	6 (33,3%)
Prurido	3 (16,7%)
Ardência	1 (5,5%)
Bolha	1 (5,6%)
Nenhum	7 (38,9%)

n= frequência. % = frequência relativa.

Figura 14 – Bolhas observadas após aplicação da termoterapia por radiofrequência



A área de reepitelização de treze lesões (56,5%) ficou com excelente aspecto, adquirindo praticamente a mesma coloração da pele inicial (Figura 15). A cicatrização com hiperpigmentação foi observada em 34,8% das lesões (Figura 16) e apenas uma paciente que apresentava duas lesões cicatrizou com hipopigmentação (Figura 17).

Figura 15 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com boa cicatrização



Figura 16 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com cicatriz hiperocrômica



Figura 17 – Antes e depois do tratamento com termoterapia com cicatriz hipocrômica



6 DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo mostram que a termoterapia com radiofrequência é um tratamento efetivo para a leishmaniose cutânea. A amostra ficou restrita a 15 pacientes por causa do curto intervalo de tempo disponível para a coleta de dados, associado ao pequeno número de casos notificados no período, quando apenas 71 casos de leishmaniose cutânea foram notificados em todo o Estado do Piauí (BRASIL, 2016). Apesar disso, consideramos que esta amostra tem características demográficas e clínicas representativas da população que costuma ser acometida por essa doença.

A termoterapia com radiofrequência teve uma taxa de cura de 87%, uma das mais elevadas se comparada a outros estudos realizados anteriormente, embora com um largo intervalo de confiança (IC 95% 54,6% a 97,2%). Uma meta-análise de estudos clínicos controlados com infecção cutânea por diferentes espécies avaliou a eficácia da termoterapia, quando comparada ao tratamento sistêmico com o antimonial pentavalente, e encontrou uma média de eficácia de 73,2% (CARDONA-ARIAS; DARÍO VÉLEZ; LÓPEZ-CARVAJAL, 2015), inferior à deste estudo. As maiores taxas de cura já descritas com essa modalidade de tratamento foram na Índia (98%), em estudo conduzido para comparar a eficácia da termoterapia com a do antimoniato intralesional (94%) em pacientes com lesões por *L. tropica* (BUMB *et al.*, 2013) e no Afeganistão (82,5%), também comparando essa terapia com o antimoniato intralesional (74%) em pacientes com *L. tropica* (SAFI *et al.*, 2012). Um estudo realizado em um hospital do exército em Washington, com soldados que contraíram a doença por *L. major* no Iraque ou no Kuwait, apresentou uma das menores taxas de cura (48%) entre os estudos publicados (ARONSON *et al.*, 2010).

É possível que fatores como resposta imunológica do hospedeiro e seu estado nutricional, bem como diferenças entre as espécies causadoras da doença, sejam responsáveis por essa divergência entre as proporções de cura encontradas nos estudos. Apesar de nesse estudo a espécie de *Leishmania* causadora da doença não ter sido identificada, é provável que as lesões tenham sido causadas por *L. braziliensis* nos pacientes provenientes do Piauí, *L. braziliensis* ou *L. amazonensis* nos pacientes do Maranhão e *L. braziliensis*, *L. amazonensis* ou *L. guyanensis* no único paciente proveniente do Pará (BRASIL, 2010). Estudo realizado anteriormente na Guatemala com 66 pacientes para avaliar a eficácia da termoterapia demonstrou eficácia de 73% em pacientes com leishmaniose cutânea por *L. braziliensis* e *L. mexicana*, a mesma dos pacientes tratados com antimonial pentavalente sistêmico (NAVIN *et al.*, 1990). Em outros dois estudos randomizados, também comparando a termoterapia com o

antimoniato pentavalente sistêmico, realizados na Colômbia, o percentual de cura foi menor, em torno de 60%. Nesses estudos as espécies envolvidas na infecção eram *L. panamensis*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis* (LÓPEZ *et al.*, 2012; VEGA *et al.*, 2009). Se compararmos os resultados desses estudos com outros dois envolvendo *L. tropica*, vemos que lesões causadas por essa espécie no Velho Mundo respondem de maneira mais eficaz à terapia com calor local, com eficácia em média de 98% e 82,5% respectivamente (BUMB *et al.*, 2013; SAFI *et al.*, 2012).

A grande maioria dos estudos demonstrou que uma única aplicação do calor local pelo aparelho de radiofrequência é suficiente para promover a completa reepitelização das lesões e alcançar a cura. Apenas em dois estudos, a termoterapia não foi aplicada em uma única sessão. Um deles, realizado na Guatemala, consistiu de três aplicações semanais da termoterapia com uma proporção de cura de 73% (NAVIN *et al.*, 1990) e o outro, realizado no Irã, optou pela aplicação da terapia uma vez por semana por quatro semanas, obtendo uma eficácia de 81% (SADEGHIAN; NILFROUSHZADEH; IRAJI, 2007). Uma dose térmica mais elevada, com mais aplicações ou temperatura mais alta, talvez possa melhorar as taxas de cura, sem aumentar os efeitos colaterais. No entanto, no nosso estudo optamos pela aplicação de uma única sessão da terapia com um bom resultado.

O único estudo realizado no Brasil com o uso deste aparelho teve como objetivo principal determinar se, a cicatrização das lesões de LC produzida pela terapia com calor local, era associada com a modulação da resposta sistêmica pelas citocinas inflamatórias em comparação com a terapia convencional com o antimoniato de N-metil-glucamina (LOBO *et al.*, 2006). A avaliação da eficácia ficou prejudicada nesse estudo, visto que, após 28 dias da aplicação do calor local, os pacientes que não responderam receberam o tratamento padronizado com o antimoniato pentavalente. Dessa forma, nosso estudo é pioneiro no Brasil na avaliação da eficácia dessa terapia alternativa para a LC.

Existe uma carência de estudos controlados com pacientes com múltiplas lesões de LC. A finalidade seria avaliar se há necessidade de tratar todas as lesões ou se a aplicação da termoterapia apenas na lesão maior seria capaz de induzir uma resposta inflamatória capaz de promover a cura das demais lesões. No nosso estudo, dos sete pacientes que tinham mais de uma lesão, somente dois apresentaram cicatrização das lesões não tratadas. Cinco necessitaram de aplicações adicionais nas lesões menores, visto que após 30 dias de seguimento não demonstraram qualquer sinal de evolução para reepitelização. Das oito lesões não tratadas inicialmente, somente duas (25%) evoluíram para cicatrização sem necessidade de aplicação local. Esse efeito sistêmico sobre as lesões não tratadas, não confirmado no

presente estudo, foi descrito em relato prévio (JUNAID, 1986). O mecanismo para esse efeito de cura à distância não é conhecido. Possivelmente, a resposta inflamatória gerada no local onde o calor foi aplicado, induza uma resposta imunológica sistêmica com efeito indutor de cicatrização à distância.

Os dois pacientes que não evoluíram com boa cicatrização das lesões após seis meses de tratamento foram considerados como falha terapêutica. Eles apresentavam uma área de 1225 mm² e 950mm² de lesão. A maioria dos pacientes do estudo apresentava lesões pequenas, com área média da lesão de 410,17 mm², sendo a menor área 50 mm² e a maior de 1400 mm². É possível que a termoterapia com radiofrequência não seja tão adequada para tratar lesões grandes. Independente do método de tratamento, quanto maior for a lesão, menor será a probabilidade de cura (SAFI et al., 2012). Além disso, fatores relacionados à resposta imune do hospedeiro e seu estado nutricional, bem como a virulência da espécie envolvida na doença poderiam influenciar na evolução para a cura dos pacientes (HEPBURN, 2003). Um desses pacientes que apresentou falha terapêutica se recusou a receber o antimoniato pentavalente sistêmico. Após três meses de nova sessão de termoterapia, apresentou completa cicatrização de suas úlceras e evoluiu para cura. Se considerarmos esse paciente curado por termoterapia, a eficácia do tratamento sobe de 86,7% para 93,3% (IC 95% 68,0 a 99,8%).

Após a aplicação da termoterapia por radiofrequência todos os pacientes foram orientados a usar creme de ácido fusídico duas vezes ao dia por sete dias, o que provavelmente contribuiu para que não ocorresse infecção secundária como complicação após o tratamento. Estudos nos quais não foi tomada tal precaução registraram taxas de infecção secundária de 7% (LÓPEZ et al., 2013) e de 19% (ARONSON et al., 2010). Os principais efeitos colaterais observados foram ardência, dor e prurido. Apenas um paciente apresentou uma reação mais grave com bolhas no local da aplicação. Apesar disso, esse paciente apresentou boa evolução, cura de sua úlcera e excelente cicatrização, com leve eritema no local.

Todos os pacientes que responderam ao tratamento tiveram um resultado cosmético aceitável aos seis meses de seguimento. A radiofrequência é capaz de induzir a contração, a síntese e a remodelação do colágeno (ALSTER; TANZI; RUIZ-ESPARZA, 2004). Dessa forma, a maioria das lesões tratadas adquiriu uma coloração muito semelhante a cor da pele do paciente e as lesões que ficaram com discromias provavelmente ao longo do tempo ainda terão uma melhora no seu aspecto estético.

O calor produzido pela radiofrequência promove uma dose térmica apenas no local. Sendo assim, como em todas as terapias locais, pode não ser capaz de curar lesões à distância

e nem infecções latentes. Essa preocupação ocorre especialmente nas Américas Central e do Sul, onde a leishmaniose cutânea por *L. braziliensis* é prevalente e o risco de disseminação da infecção para a mucosa permanece preocupante. Outra preocupação em relação à termoterapia diz respeito à duração de sua resposta e as chances de recidivas. Entretanto, esse risco também pode ser extrapolado para os tratamentos sistêmicos, que ainda não têm comprovação suficiente de sua eficácia em inibir a persistência ou a reativação dos parasitos. Na Guatemala, em mais de 600 pacientes com leishmaniose cutânea por *L. mexicana* e *L. braziliensis* já tratados com termoterapia, não houve evidência de leishmaniose mucosa no seguimento após 12 meses do tratamento (NAVIN *et al.*, 1990). Além disto, na Índia, estudo de eficácia a longo prazo, não demonstrou parasitos de *L. tropica* na pele através de PCR mesmo após 18 meses de seguimento (BUMB *et al.*, 2013).

Ao longo dos anos a terapia com o antimoniato pentavalente tem sido usada como droga de escolha no tratamento da LC. Entretanto, devido à sua toxicidade, necessidade de exames laboratoriais para monitorização, dificuldade de aplicação, tempo prolongado de tratamento, baixa aderência, custo e diminuição de sua eficácia ao longo do tempo atribuível à administração incompleta de regimes terapêuticos, seu uso deve ficar restrito às situações nas quais o tratamento sistêmico se faz estritamente necessário. Entre essas situações estão os casos de leishmaniose cutâneomucosa, leishmaniose disseminada, leishmaniose difusa e nos locais onde a terapia com calor local deva ser evitada, como em regiões próximas às mucosas. Sendo assim, a grande maioria dos pacientes, com LC localizada e com poucas lesões, seriam poupados de uma terapia mais agressiva que a própria doença. Esse benefício seria de especial valor nos pacientes idosos. Muitas vezes esse grupo de pacientes recebe um tratamento sistêmico tóxico por causa de uma lesão ulcerada, que nem mesmo teve o diagnóstico de certeza de LC confirmado por métodos parasitológicos. Isso evitaria desfechos fatais como anteriormente registrados (DINIZ; COSTA; ESCALDA, 2012; LIMA *et al.*, 2007).

Uma das principais maneiras encontradas para amenizar as desvantagens do uso do antimoniato pentavalente sistêmico é o seu uso apenas intralesional. Com isso, a maioria dos efeitos adversos é minimizada. A eficácia do antimoniato intralesional já foi registrada variando entre 80-92% (BUMB *et al.*, 2013; OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1997). Entretanto, estudos publicados no Irã apontam taxa de cura não tão elevada dessa modalidade de tratamento com eficácia entre 40-60% (ASILIAN *et al.*, 2004; SADEGHIAN; NILFROUSHZADEH; IRAJI, 2007). Outras desvantagens incluem a necessidade de múltiplas aplicações diminuindo a adesão dos pacientes, o maior número de efeitos colaterais quando comparado à termoterapia, o custo e a necessidade de monitorização laboratorial.

Novas opções terapêuticas têm sido buscadas. Contudo, apesar dos bons resultados, nenhuma delas foi considerada conveniente ou eficaz o suficiente para substituir o tratamento convencional. Dentre as opções de tratamentos localizados a termoterapia com radiofrequência aparece como uma opção bastante viável, uma vez que é eficaz e geralmente requer apenas uma sessão, aumentando a adesão por parte do paciente. Uma das principais vantagens dessa terapia é que o aparelho usado é de fácil aplicação, leve e funciona por meio de baterias recarregáveis, tornando possível seu uso em áreas rurais ou sem eletricidade. Outra vantagem dessa modalidade de tratamento é que não necessita de monitoramento com exames laboratoriais, poupando os órgãos de saúde de gastos adicionais nesse sentido. Embora o equipamento para a termoterapia seja ainda relativamente caro, dificultando o seu acesso em países endêmicos, os gastos relacionados ao tratamento convencional são superiores. Todas essas vantagens fazem dessa terapia uma boa alternativa no tratamento da leishmaniose cutânea localizada, especialmente em pacientes que apresentem contra-indicações absolutas ou relativas à terapia convencional tais como cardiopatias, nefropatias, hepatopatias, gestantes e pacientes com HIV.

7 CONCLUSÕES

A leishmaniose cutânea localizada pode ser tratada com uma única aplicação de termoterapia com radiofrequência de maneira segura, eficaz, com bom resultado cosmético, sem a toxicidade e os efeitos colaterais do tratamento tradicional com os antimoniais pentavalentes, podendo ser considerada uma alternativa ao tratamento convencional no Brasil.

A terapia convencional com antimoniato de N-metil-glucamina deve ser reservada para os casos de leishmaniose cutâneo-mucosa, leishmaniose disseminada, leishmaniose difusa, situações nas quais haja dificuldade na aplicação do calor local (olhos, região genital e anal ou adjacente a esses locais) e lesões localizadas em regiões com maior probabilidade de evolução para a forma mucosa (nariz, lábios e proximidades).

Ensaio clínico randomizado comparando esse tipo de terapia à terapia tradicional com o antimoniato pentavalente são necessários e serão conduzidos com um maior número de pacientes, para que essa forma de tratamento seja colocada como uma das principais opções no tratamento da leishmaniose cutânea localizada no Brasil.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, O. L. S.; SANTOS, J. B. Advances in the treatment of cutaneous leishmaniasis in the new world in the last ten years: a systematic literature review. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 497–506, 2011.

ALSTER, T. S.; TANZI, E.; RUIZ-ESPARZA, J. Improvement of Neck and Cheek Laxity with a Nonablative Radiofrequency Device: A Lifting Experience. **Dermatologic Surgery**, v. 30, n. 4, p. 503–507, 2004.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.

AMATO, V. S. et al. Mucosal leishmaniasis. Current scenario and prospects for treatment. **Acta Tropica**, v. 105, n. 1, p. 1–9, 2008.

ANDRADE, R. V. DE et al. The use of polymerase chain reaction to confirm diagnosis in skin biopsies consistent with american tegumentary leishmaniasis at histopathology: a study of 90 cases. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 5, p. 892–896, 2011.

ANTONIO, L. DE F. et al. Montenegro Skin Test and age of skin lesion as predictors of treatment failure in Cutaneous Leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 5, p. 375–380, set. 2014.

ARONSON, N. E. et al. A randomized controlled trial of local heat therapy versus intravenous sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous *Leishmania major* infection. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 3, p. e628, jan. 2010.

ASILIAN, A. et al. Comparative study of the efficacy of combined cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate (Glucantime®) vs. cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate (Glucantime®) alone for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **International Journal of Dermatology**, v. 43, n. 4, p. 281–283, abr. 2004.

BAILEY, M. S.; LOCKWOOD, D. N. J. Cutaneous leishmaniasis. **Clinics in dermatology**, v. 25, n. 2, p. 203–211, 2007.

BARBOSA, A. F. et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) using phenothiazine derivatives as photosensitizers against *Leishmania braziliensis*. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 44, n. 10, p. 850–855, 2012.

BEN SALAH, A. et al. Topical paromomycin with or without gentamicin for cutaneous leishmaniasis. **The New England journal of medicine**, v. 368, n. 6, p. 524–532, 2013.

BERMAN, J. D.; NEVA, F. A. Effect of temperature on multiplication of *Leishmania amastigotes* within human monocyte-derived macrophages in vitro. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 30, n. 2, p. 318–321, mar. 1981.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n° 466 de 12 de dezembro de 2012:

Diretrizes e Normas de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos: Brasília, 2012. DOU n° 466 de 12/12/2012. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/>>. Acesso em 31 de julho de 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **Diretrizes dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA)**: Brasília, 1999. 32p.

_____. Ministério da Saúde. **Situação de Prevenção e Controle das Doenças Transmissíveis no Brasil**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde/ Centro Nacional de Epidemiologia, p. 28-29, 2014.

_____. Portal da Saúde. **Sistema de Vigilância em Saúde Relatório de Situação Leishmaniose Tegumentar Americana**. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs/leishmaniosetegumentaramericana/>>. Acesso em 27 de junho de 2016.

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. rev. atual. Brasília: Ed. Ministério da Saúde, 2010, p. 180. BRITO, M. E. et al. Identification of potentially diagnostic *Leishmania braziliensis* antigens in human cutaneous leishmaniasis by immunoblot analysis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 2, p. 318–321, 2000.

BUMB, R. A. et al. Long-term efficacy of single-dose radiofrequency-induced heat therapy vs. intralesional antimonials for cutaneous leishmaniasis in India. **British Journal of Dermatology**, v. 168, n. 5, p. 1114–1119, maio 2013.

CARDONA-ARIAS, J. A.; DARÍO VÉLEZ, I.; LÓPEZ-CARVAJAL, L. Efficacy of thermotherapy to treat cutaneous leishmaniasis: A meta-analysis of controlled clinical trials. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–15, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Estados Unidos). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/>>. Acesso em: 27 junho 2016.

COSTA, J. M. L. et al. Estado atual da leishmaniose cutânea difusa (LCD) no Estado do Maranhão. II. Aspectos epidemiológicos, clínico-evolutivos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, n. 2, p. 115–123, 1992.

COSTA, C. A. DA et al. Montenegro skin test - evaluation of the composition and stability of the antigen preparation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 2, p. 193–194, abr. 1996.

CUBA CUBA, C. A. et al. Cultivation of *leishmania braziliensis braziliensis* from skin ulcers in man under field conditions. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, n. 3, p. 456–457, 1986.

DAVID, C. V; CRAFT, N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Dermatologic therapy**, v. 22, n. 6, p. 491–502, 2009.

DAVIES, C. R. et al. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries.

Cadernos de saúde pública, v. 16, n. 4, p. 925–950, 2000.

DE OLIVEIRA, C. I. et al. Clinical utility of polymerase chain reaction-based detection of *Leishmania* in the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 37, n. 11, p. e149–e153, 2003.

DINIZ, D. S.; COSTA, A. S. V.; ESCALDA, P. M. F. The effect of age on the frequency of adverse reactions caused by antimony in the treatment of American tegumentary leishmaniasis in Governador Valadares, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 5, p. 597–600, out. 2012.

FABER, W. R. et al. Value of diagnostic techniques for cutaneous leishmaniasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 49, n. 1, p. 70–74, 2003.

FAGUNDES, A. et al. Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 109–112, 2010.

FOLLADOR, I. et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 497–503, 1999.

FRANÇA-COSTA, J. et al. Arginase I, polyamine, and prostaglandin E2 pathways suppress the inflammatory response and contribute to diffuse cutaneous leishmaniasis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 211, n. 3, p. 426–435, 2015.

GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. DE L. R. American cutaneous leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71–80, 2003.

GRIMALDI, G.; DAVID, J. R.; MCMAHON-PRATT, D. Identification and distribution of New World *Leishmania* species characterized by serodeme analysis using monoclonal antibodies. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 36, n. 2, p. 270–287, mar. 1987.

_____; TESH, R. B.; MCMAHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, n. 6, p. 687–725, 1989.

HADIGHI, R. et al. Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous Leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites. **PLoS Medicine**, v. 3, n. 5, p. 659–667, 2006.

_____. et al. Glucantime-resistant *Leishmania tropica* isolated from Iranian patients with cutaneous leishmaniasis are sensitive to alternative antileishmania drugs. **Parasitology Research**, v. 101, n. 5, p. 1319–1322, 2007.

HANDLER, M. Z. et al. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 6, p. 911–926, dez. 2015.

HENDERSON, A.; JOLLIFFE, D. Cardiac effects of sodium stibogluconate. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 73–77, 1985.

HEPBURN, N. Cutaneous leishmaniasis: an overview. **Journal of Postgraduate Medicine**, v. 49, n. 1, p. 50–54, 2003.

_____. et al. Cardiac effects of sodium stibogluconate: myocardial, electrophysiological and biochemical studies. **QJM : monthly journal of the Association of Physicians**, v. 87, n. 8, p. 465–472, ago. 1994.

HERVÁS, J. A et al. Old world *Leishmania infantum* cutaneous leishmaniasis unresponsive to liposomal amphotericin B treated with topical imiquimod. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 31, n. 1, p. 97–100, 2012.

JUNAID, A. J. Treatment of cutaneous leishmaniasis with infrared heat. **International journal of dermatology**, v. 25, n. 7, p. 470–472, set. 1986.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New World and Old World *Leishmania* Infections. **Dermatologic Clinics**, v. 33, n. 3, p. 579–593, jul. 2015.

LAINSON, R. et al. Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sandfly vector of *Leishmania* (*Viannia*) *lainsoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 3, p. 437–439, 1992.

_____. et al. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 435–443, set. 1994.

_____; SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. **British medical bulletin**, v. 28, n. 1, p. 44–48, jan. 1972.

LAKHAL-NAOUAR, I. et al. The Immunology of a Healing Response in Cutaneous Leishmaniasis Treated with Localized Heat or Systemic Antimonial Therapy. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 10, p. e0004178, 2015.

LIMA, M. V. N. DE et al. Leishmaniose cutânea com desfecho fatal durante tratamento com antimonial pentavalente. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 3, p. 269–271, jun. 2007.

LOBO, I. M. F. et al. Heat therapy for cutaneous leishmaniasis elicits a systemic cytokine response similar to that of antimonial (Glucantime) therapy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 7, p. 642–649, jul. 2006.

LÓPEZ, L. et al. Thermotherapy. An alternative for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. **Trials**, v. 13, n. 1, p. 58–65, jan. 2012.

_____. et al. Thermotherapy effective and safer than miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 3, p. 197–204, jan. 2013.

- MASHAYEKHI-GHOYONLO, V. et al. Correlation between Socioeconomic Status and Clinical Course in Patients with Cutaneous Leishmaniasis. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 19, n. 1, p. 40–44, jan. 2015.
- MASMOUDI, A. et al. Old World cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. **Journal of dermatological case reports**, v. 7, n. 2, p. 31–41, jun. 2013.
- MATOSSIAN, R. M.; KURBAN, A.; MALAK, J. Circulating antibodies in cutaneous leishmaniasis: their detection by immunofluorescence. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 5, p. 450–452, 1975.
- MAURER, M.; DONDI, B.; VON STEBUT, E. What determines the success or failure of intracellular cutaneous parasites? Lessons learned from leishmaniasis. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 198, n. 3, p. 137–146, 2009.
- MEDEIROS, A. C. R.; ROSELINO, A. M. F. Leishmaniose tegumentar americana do histórico aos dias de hoje. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 74, n.4, p.329-336, 1999.
- MIRANDA-VERÁSTEGUI, C. et al. Randomized, double-blind clinical trial of topical imiquimod 5% with parenteral meglumine antimoniate in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Peru. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 40, n. 10, p. 1395–1403, 2005.
- MONGE-MAILLO, B.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Therapeutic Options for Old World Cutaneous Leishmaniasis and New World Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. **Drugs**, v. 73, n. 17, p. 1889–1920, nov. 2013.
- MORAES, M. A. P.; CORREIA FILHO, D.; SANTOS, J. B. Linfadenopatias na leishmaniose tegumentar americana: considerações sobre dois casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 26, n. 3, p. 181–185, set. 1993.
- MOREIRA, R. D. C. R. et al. Nível de conhecimentos sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 1, p. 187–195, 2002.
- MURBACK, N. D. N. et al. Leishmaniose tegumentar americana: estudo clínico, epidemiológico e laboratorial realizado no Hospital Universitário de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 1, p. 55–63, fev. 2011.
- MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. **Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561–1577, 2005.
- NAME, R. Q. et al. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 3, p. 249–254, 2005.
- NAVIN, T. R. et al. Placebo-controlled clinical trial of meglumine antimonate (glucantime) vs. localized controlled heat in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 42, n. 1, p. 43–50, jan. 1990.

NETTO, E. M. et al. Conceito de uma população local a respeito da leishmaniose mucocutânea em uma área endêmica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18, n. 1, p. 33–37, 1985.

NEVA, F. A. et al. Observations on local heat treatment for cutaneous leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 33, n. 5, p. 800–804, set. 1984.

NEVES, L. O. et al. Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1092–1101, 2011.

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

OUELLETTE, M.; DRUMMELSMITH, J.; PAPADOPOULOU, B. Leishmaniasis: drugs in the clinic, resistance and new developments. **Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy**, v. 7, n. 4–5, p. 257–266, 2004.

PASSOS, V. M. et al. American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 78, n. 8, p. 968–974, 2000.

PRASAD, N. et al. Heat, Oriental sore, and HIV. **Lancet**, v. 377, n. 9765, p. 610, fev. 2011.

REITHINGER, R. et al. Efficacy of thermotherapy to treat cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Kabul, Afghanistan: a randomized, controlled trial. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 40, n. 8, p. 1148–1155, 2005.

_____. et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 7, n. 9, p. 581–596, set. 2007.

REY, L. Parasitologia, 2ª edição. **Editora Guanabara Koogan**, 2001.

RIBEIRO DE PAULA, C. D. et al. Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de N-metil-glucamina 20mgSbV/kg/ dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 365–371, 2003.

SACKS, D. L.; BARRAL, A.; NEVA, F. A. Thermosensitivity patterns of Old vs. New World cutaneous strains of *Leishmania* growing within mouse peritoneal macrophages in vitro. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 32, n. 2, p. 300–304, mar. 1983.

SADEGHIAN, G.; NILFROUSHZADEH, M. A.; IRAJI, F. Efficacy of local heat therapy by radiofrequency in the treatment of cutaneous leishmaniasis, compared with intralesional injection of meglumine antimoniate. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 32, n. 4, p.

371–374, jul. 2007.

SAFI, N. et al. Evaluation of thermotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Kabul, Afghanistan: a randomized controlled trial. **Military medicine**, v. 177, n. 3, p. 345–51, mar. 2012.

SHAMSI MEYMANDI, S. et al. Efficacy of CO(2) laser for treatment of anthroponotic cutaneous leishmaniasis, compared with combination of cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 25, n. 5, p. 587–591, maio 2011.

SHARQUIE, K. E.; AL-HAMAMY, H.; EL-YASSIN, D. Treatment of cutaneous leishmaniasis by direct current electrotherapy: the Baghdadin device. **Journal of dermatology**, v. 25, n. 4, p. 234–237, 1998.

SKRABA, C. M. et al. Evaluation of the reference value for the Montenegro skin test. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 437–444, 2015.

SOTO, J. et al. Topical paromomycin/methylbenzethonium chloride plus parenteral meglumine antimonate as treatment for American cutaneous leishmaniasis: controlled study. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 26, n. 1, p. 56–58, 1998.

_____. et al. Short report: Efficacy of pentavalent antimony for treatment of Colombian cutaneous leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 72, n. 4, p. 421–422, 2005.

SOUSA, A. DE Q. et al. Bubonic leishmaniasis: a common manifestation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in Ceara, Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 53, n. 4, p. 380–385, out. 1995.

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

TURETZ, M. L. et al. Disseminated leishmaniasis: a new and emerging form of leishmaniasis observed in northeastern Brazil. **The Journal of infectious diseases**, v. 186, n. 12, p. 1829–1834, dez. 2002.

URJEL, R. et al. A simple method for the collection of material from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis lesions. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 6, p. 882–883, 1983.

VARDY D, BARENHOLZ Y, COHEN R, ZVULUNOV A, BITON A, KLAUS S, F. S. Topical Amphotericin B for Cutaneous Leishmaniasis. **Archives of Dermatology**, v. 135, n. 7, p. 856–857, 1999.

VEGA, J. C. et al. The efficacy of thermotherapy to treat cutaneous leishmaniasis in Colombia: a comparative observational study in an operational setting. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 7, p. 703–706, jul. 2009.

VIANA, A. G. et al. Histopathological and immunohistochemical aspects of American cutaneous leishmaniasis before and after different treatments. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 88, n. 1, p. 32–40, 2013.

WEIGEL, M. M.; ARMIJOS, R. X. The traditional and conventional medical treatment of cutaneous leishmaniasis in rural Ecuador. **Revista panamericana de salud pública. Pan American journal of public health**, v. 10, n. 6, p. 395–404, dez. 2001.

WHO. Control of the Leishmaniases. **Organization technical report series**, v. 949, n. March, p. 22–26, 2010.

YAMEY, G.; TORREELE, E. The world's most neglected diseases. **The British Medical Journal**, v. 325, n. 7357, p. 176–177, 2002.

APÊNDICES

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Adultos)

Título da pesquisa: *Tratamento da Leishmaniose Cutânea com Termoterapia no Brasil: estudo de eficácia e segurança*

Pesquisadores responsáveis: Sheila Viana Castelo Branco Gonçalves

Telefone: (86) 9930-1444

e-mail: sheilacastelo@hotmail.com

Carlos Henrique Nery Costa

Telefone e Fax: (86) 3221 2424

e-mail: secretariaidtnp@gmail.com

INFORMAÇÕES AO VOLUNTÁRIO PARTICIPANTE DA PESQUISA

Estamos convidando você para participar como voluntário de um projeto de pesquisa desenvolvido por pesquisadores desta e de outras instituições brasileiras. A pesquisa tem como objetivo avaliar a resposta da termoterapia no tratamento da leishmaniose tegumentar.

A leishmaniose tegumentar é uma doença causada por um micróbio chamado *Leishmania* que infecta o ser humano por meio da picada de um inseto chamado flebótomo (também conhecido como mosquito palha). A pessoa com essa doença tem feridas na pele e nas mucosas (nariz e boca, por exemplo) que não saram. A confirmação da doença é feita geralmente pela “raspagem” e biopsia (retirada de um pequeno pedaço da ferida após anestesia). O exame de Montenegro também deve ser realizado para melhor avaliação. Ele é feito através da injeção de uma pequena quantidade de um líquido, o antígeno de Montenegro, na pele do braço e após dois dias é realizada a avaliação se houve inflamação.

A doença tem cura, mas pode causar deformidades e grandes feridas se não for tratada. No Brasil, o tratamento é fornecido pelo Ministério da Saúde, sem custo para o paciente. O remédio mais usado é o antimoniato de meglumina (o nome comercial é Glucantime). Existem outros remédios usados como a Anfotericina B desoxicolato. A escolha de qual deles será usado depende do estado de saúde geral de cada paciente porque todos os remédios até hoje desenvolvidos para o tratamento da leishmaniose tegumentar têm algum efeito indesejado ou não podem ser usados se o paciente tem determinados problemas de saúde.

No Brasil, faltam pesquisas para descobrir novas opções de tratamento para a leishmaniose tegumentar. Essas pesquisas são importantes para buscar um tratamento que seja menos agressivo, cause menos problemas para o doente seja menos demorado. É por isto que essa pesquisa é importante para avaliar um outro tipo de tratamento para essa doença.

Descrição do estudo

Serão convidados para participar desta pesquisa homens, mulheres e crianças que tenham leishmaniose tegumentar, atendidos no Centro de Referência para leishmaniose que

participam do estudo. Não poderão participar da pesquisa, pacientes com feridas nas mucosas e em regiões próximas ao nariz, olhos, boca, ânus e genitais, e também pessoas com mais de dez feridas. Também não poderão participar pacientes que tenham alguma condição clínica grave ou tenham a imunidade baixa.

Caso você concorde em participar da pesquisa você será tratado com um aparelho que aquece a ferida a 50° C por apenas 30 a 60 segundos após anestesia com injeção no local. A anestesia garante que você não sinta dor durante a aplicação do aparelho. Esse aparelho que aquece a ferida e promove a cura da ferida, já é usado para tratar pacientes em outros países com essa e outras doenças, como câncer de pele. O tratamento será completamente supervisionado no hospital e será realizado pela médica Dra. Sheila Viana Castelo Branco, responsável pela pesquisa.

Você será acompanhado através de exame clínico até seis meses após o tratamento, nos dias 14, 30, 90 e 180. É muito importante que você considere se aceita participar do estudo em todas estas datas, até o final. Se durante a avaliação você não curar com o tratamento realizado, você receberá o tratamento com a medicação padrão do Ministério da Saúde chamada Glucantime. Essa medicação é dada através de injeção na veia ou na nádega.

Riscos possíveis

Os possíveis riscos da participação no estudo estão principalmente relacionados às reações adversas da aplicação do aparelho como queimadura, infecção e desconforto após a aplicação. Também é possível que você não tenha boa resposta a esse tratamento e tenha que fazer outro tratamento com remédios, caso você não melhore. Esse último risco também é possível com outros tratamentos.

Armazenamento de amostras biológicas para uso em pesquisas futuras

As amostras de pele que serão utilizadas para confirmar que você tem leishmaniose tegumentar serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência para que possam ser utilizadas em novas pesquisas que precisem de amostras de pacientes com a mesma doença e para avaliação de cura após o tratamento, e assim facilitar o cuidado aos pacientes que sofrem de leishmaniose tegumentar no Brasil e em outras partes do mundo.

Esclarecimentos sobre as garantias aos pacientes que participarem do estudo

1. Você pode pedir esclarecimento aos profissionais de saúde, em qualquer momento, se tiver alguma dúvida em relação à participação na pesquisa, ou sobre riscos, benefícios e resultados.

2. A sua participação nesta pesquisa é totalmente voluntária. Se você não quiser mais participar da pesquisa você pode retirar seu consentimento a qualquer momento. Isto não vai trazer nenhum prejuízo ao atendimento rotineiro, a que tem direito na unidade de saúde aonde vem sendo tratado. Os responsáveis pelo estudo poderão interromper a participação dos pacientes voluntários neste estudo se eles acharem que esta seja a melhor conduta para você, nesse caso o médico responsável pelo seu tratamento informará a você oportunamente sobre essa decisão e sobre as alternativas que serão oferecidas para continuar o seu tratamento. O centro de atendimento onde você será tratado assume a responsabilidade pelo seu tratamento e pelo tratamento das eventuais complicações que possam se apresentar durante o mesmo.

3. Todas as informações da pesquisa serão sigilosas. Ninguém divulgará o nome dos participantes e os resultados dos exames identificados com o nome dos participantes, a não ser para os pais ou responsáveis, no caso dos menores de idade. Se for solicitado por lei, somente o grupo de estudo, o Ministério da Saúde (Brasil) e os Comitês de Ética terão acesso às informações confidenciais que identificam o paciente pelo nome. Você não será identificado em qualquer relatório ou publicação que resulte deste estudo.

4. Em caso de emergência, se você tiver qualquer dúvida com relação ao tratamento ou se achar que está ocorrendo algum problema relacionado ao estudo, você deverá avisar ao médico imediatamente ou procurar o ambulatório de leishmaniose no Instituto Natan Portella coordenado pela Dra. Sheila Viana Castelo Branco.

5. Durante o acompanhamento você terá direito ao ressarcimento das despesas com transporte para as visitas à unidade de saúde relacionada com a pesquisa.

6. As amostras de pele ou outro material biológico que serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência só serão utilizadas para novos estudos após a aprovação dos respectivos comitês de ética em pesquisa e o sigilo sobre as informações particulares de cada pessoa que participou da pesquisa será mantido. Em cada centro serão mantidas as informações de contato de cada um dos pacientes dos quais foram obtidas as amostras caso haja necessidade de informá-lo sobre novos resultados de exames realizados após a finalização do estudo que possam ser de benefício no cuidado da sua saúde.

Observações complementares

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: **Comitê de Ética em Pesquisa** – UFPI – Campus Universitário Ministro Petrônio Portella – Bairro Ininga. Centro de Convivência L09 e 10. CEP: 64.049-550. Teresina-PI. Tel.: (86) 3215.5734. E-mail: cep.ufpi@ufpi.br. web: www.ufpi.br/cep

Dados de identificação do voluntário e do responsável

Nome do paciente: _____ Sexo: M F

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade _____ Estado: _____

CEP _____ Telefone: () _____

Responsável Legal _____ Sexo: M F

Grau de parentesco _____

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, antes de dar o consentimento assinando este documento, afirmo que fui suficientemente informado(a) de todo o estudo e do tratamento que será realizado, os inconvenientes, os perigos e os

eventos adversos que podem acontecer. Eu conversei diretamente com a profissional de saúde envolvida no estudo que respondeu todas as minhas perguntas satisfatoriamente em relação ao estudo e voluntariamente aceito a participação. Eu autorizo os pesquisadores a utilizarem as anotações médicas desta pesquisa para obterem a informação necessária para avaliar a eficácia e os efeitos adversos do tratamento que está sendo estudado. Autorizo ainda o armazenamento de amostras biológicas obtidas durante este estudo para a realização de pesquisas a serem realizadas após a finalização do presente estudo. Tenho conhecimento que a minha cooperação com os compromissos marcados (consultas, exames) é essencial para o êxito do projeto.

Nome do voluntário

Assinatura ou impressão digital do voluntário ou representante legal

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

Declaração da testemunha:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e a assinatura do mesmo.

Nome da testemunha

Assinatura ou impressão digital da testemunha

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

Declaração do investigador:

Eu expliquei o objetivo deste estudo ao voluntário. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo. Declaro também que o paciente recebeu uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do investigador

Assinatura do investigador

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Pais ou responsáveis)

Título da pesquisa: *Tratamento da Leishmaniose Cutânea com Termoterapia no Brasil: estudo de eficácia e segurança*

Pesquisadores responsáveis: Sheila Viana Castelo Branco Gonçalves

Telefone: (86) 9930-1444

e-mail: sheilacastelo@hotmail.com

Carlos Henrique Nery Costa

Telefone e Fax: (86) 3221 2424

e-mail: secretariaidtnp@gmail.com

INFORMAÇÕES AOS PAIS OU AO RESPONSÁVEL LEGAL DE VOLUNTÁRIOS
MENORES DE 18 ANOS

Estamos convidando o seu (sua) filho(a) ou o menor sob sua responsabilidade para participar como voluntário de um projeto de pesquisa desenvolvido por pesquisadores desta e de outras instituições brasileiras. A pesquisa tem como objetivo avaliar a resposta da termoterapia no tratamento da leishmaniose tegumentar.

A leishmaniose tegumentar é uma doença causada por um micróbio chamado *Leishmania* que infecta o ser humano por meio da picada de um inseto chamado flebótomo (também conhecido como mosquito palha). A pessoa com essa doença tem feridas na pele e nas mucosas (nariz e boca por exemplo) que não saram. A confirmação da doença é feita geralmente pela “raspagem” e biopsia (retirada de um pequeno pedaço da ferida após anestesia). O exame de Montenegro também deve ser realizado para melhor avaliação. Ele é feito através da injeção de uma pequena quantidade de um líquido, o antígeno de Montenegro, na pele do braço e após dois dias é realizada a avaliação se houve inflamação.

A doença tem cura, mas pode causar deformidades e grandes feridas se não for tratada. No Brasil, o tratamento é fornecido pelo Ministério da Saúde, sem custo para o paciente. O remédio mais usado é o antimoniato de meglumina (o nome comercial é Glucantime). Existem outros remédios usados como a Anfotericina B desoxicolato. A escolha de qual deles será usado depende do estado de saúde geral de cada paciente porque todos os remédios até hoje desenvolvidos para o tratamento da leishmaniose tegumentar têm algum efeito indesejado ou não podem ser usados se o paciente tem determinados problemas de saúde.

No Brasil, faltam pesquisas para descobrir novas opções de tratamento para a leishmaniose tegumentar. Essas pesquisas são importantes para buscar um tratamento que seja menos agressivo, cause menos problemas para o doente seja menos demorado. É por isto que essa pesquisa é importante para avaliar um outro tipo de tratamento para essa doença.

Descrição do estudo

Serão convidados para participar desta pesquisa homens, mulheres e crianças que tenham leishmaniose tegumentar, atendidos no Centro de Referência para leishmaniose que participam do estudo. Não poderão participar da pesquisa, pacientes com feridas nas mucosas e em regiões próximas ao nariz, olhos, boca, ânus e genitais, e também pessoas com mais de

dez feridas. Também não poderão participar pacientes que tenham alguma condição clínica grave ou tenham a imunidade baixa.

Caso você concorde em participar da pesquisa você será tratado com um aparelho que aquece a ferida a 50° C por apenas 30 a 60 segundos após anestesia com injeção no local. A anestesia garante que você não sinta dor durante a aplicação do aparelho. Esse aparelho que aquece a ferida e promove a cura da ferida, já é usado para tratar pacientes em outros países com essa e outras doenças, como câncer de pele. O tratamento será completamente supervisionado no hospital e será realizado pela médica Dra. Sheila Viana Castelo Branco, responsável pela pesquisa.

Você será acompanhado através de exame clínico até seis meses após o tratamento, nos dias 14, 30, 90 e 180. É muito importante que você considere se aceita participar do estudo em todas estas datas, até o final. Se durante a avaliação você não curar com o tratamento realizado, você receberá o tratamento com a medicação padrão do Ministério da Saúde chamada Glucantime. Essa medicação é dada através de injeção na veia ou na nádega.

Riscos possíveis

Os possíveis riscos da participação no estudo estão principalmente relacionados às reações adversas da aplicação do aparelho como queimadura, infecção e desconforto após a aplicação. Também é possível que você não tenha boa resposta a esse tratamento e tenha que fazer outro tratamento com remédios, caso você não melhore. Esse último risco também é possível com outros tratamentos.

Armazenamento de amostras biológicas para uso em pesquisas futuras

As amostras de pele que serão utilizadas para confirmar que você tem leishmaniose tegumentar serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência para que possam ser utilizadas em novas pesquisas que precisem de amostras de pacientes com a mesma doença e para avaliação de cura após o tratamento, e assim facilitar o cuidado aos pacientes que sofrem de leishmaniose tegumentar no Brasil e em outras partes do mundo.

Esclarecimentos sobre as garantias aos pacientes que participarem do estudo

1. Você pode pedir esclarecimento aos profissionais de saúde, em qualquer momento, se tiver alguma dúvida em relação à participação na pesquisa, ou sobre riscos, benefícios e resultados.

2. A participação do seu (sua) filho(a) ou do menor sob sua responsabilidade nesta pesquisa é totalmente voluntária. Se você não quiser mais participar da pesquisa você pode retirar seu consentimento a qualquer momento. Isto não vai trazer nenhum prejuízo ao atendimento rotineiro, a que tem direito na unidade de saúde aonde vem sendo tratado. Os responsáveis pelo estudo poderão interromper a participação dos pacientes voluntários neste estudo se eles acharem que esta seja a melhor conduta para você, nesse caso o médico responsável pelo seu tratamento informará a você oportunamente sobre essa decisão e sobre as alternativas que serão oferecidas para continuar o seu tratamento. O centro de atendimento onde você será tratado assume a responsabilidade pelo seu tratamento e pelo tratamento das eventuais complicações que possam se apresentar durante o mesmo.

3. Todas as informações da pesquisa serão sigilosas. Ninguém divulgará o nome dos participantes e os resultados dos exames identificados com o nome dos participantes, a não ser

para os pais ou responsáveis, no caso dos menores de idade. Se for solicitado por lei, somente o grupo de estudo, o Ministério da Saúde (Brasil) e os Comitês de Ética terão acesso às informações confidenciais que identificam o paciente pelo nome. Você não será identificado em qualquer relatório ou publicação que resulte deste estudo.

4. Em caso de emergência, se você tiver qualquer dúvida com relação ao tratamento ou se achar que está ocorrendo algum problema relacionado ao estudo, você deverá avisar ao médico imediatamente ou procurar o ambulatório de leishmaniose no Instituto Natan Portella coordenado pela Dra. Sheila Viana Castelo Branco.

5. Durante o acompanhamento você terá direito ao ressarcimento das despesas com transporte para as visitas à unidade de saúde relacionada com a pesquisa.

6. As amostras de pele ou outro material biológico que serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência só serão utilizadas para novos estudos após a aprovação dos respectivos comitês de ética em pesquisa e o sigilo sobre as informações particulares de cada pessoa que participou da pesquisa será mantido. Em cada centro serão mantidas as informações de contato de cada um dos pacientes dos quais foram obtidas as amostras caso haja necessidade de informá-lo sobre novos resultados de exames realizados após a finalização do estudo que possam ser de benefício no cuidado da saúde de seu (sua) filho(a) ou do menor sob sua responsabilidade.

Observações complementares

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: **Comitê de Ética em Pesquisa** – UFPI – Campus Universitário Ministro Petrônio Portella – Bairro Ininga. Centro de Convivência L09 e 10 – CEP: 64.049-550. Teresina-PI. Tel.: (86) 3215.5734. E-mail: cep.ufpi@ufpi.br. web: www.ufpi.br/cep

Dados de identificação do voluntário e do responsável

Nome do paciente: _____ Sexo: M F

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade _____ Estado: _____

CEP _____ Telefone: () _____

Responsável Legal _____ Sexo: M F

Grau de parentesco _____

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, antes de dar o consentimento assinando este documento, afirmo que fui suficientemente informado(a) de todo o estudo e do tratamento que será utilizado, os inconvenientes, os perigos e os eventos adversos que podem acontecer. Eu conversei diretamente com a profissional de saúde envolvida no estudo que respondeu todas as minhas perguntas satisfatoriamente em relação ao estudo e voluntariamente autorizo o meu filho (a) ou o menor sob minha responsabilidade _____ a participar da pesquisa. Eu autorizo os pesquisadores a utilizarem as anotações médicas do meu (minha) filho(a) ou do menor sob minha responsabilidade para obterem a informação necessária para avaliar a eficácia e os efeitos adversos do tratamento que está sendo estudado. Autorizo ainda o armazenamento de amostras biológicas obtidas durante este estudo para a realização de pesquisas a serem realizadas após a finalização do presente estudo. Tenho conhecimento que a minha cooperação em acompanhar o voluntário com os compromissos marcados (consultas, exames) é essencial para o êxito do projeto.

_____ Nome do voluntário	Assinatura ou impressão digital pai/mãe ou do responsável legal pelo menor
-----------------------------	--

____/____/____ às ____ horas
Data Hora

Declaração da testemunha:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e a assinatura do mesmo.

_____ Nome da testemunha	_____ Assinatura ou impressão digital da testemunha
-----------------------------	--

____/____/____ às ____ horas
Data Hora

Declaração do investigador:

Eu expliquei o objetivo deste estudo ao voluntário. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo. Declaro também que o paciente recebeu uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

_____ Nome do investigador	_____ Assinatura do investigador
-------------------------------	-------------------------------------

____/____/____ às ____ horas
Data Hora

Apêndice C - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

(DESTINADO AOS PACIENTES ENTRE 12 e 17 ANOS)

Título da pesquisa: *Tratamento da Leishmaniose Cutânea com Termoterapia no Brasil: estudo de eficácia e segurança*

Pesquisadores responsáveis: Sheila Viana Castelo Branco Gonçalves

Telefone: (86) 9930-1444

e-mail: sheilacastelo@hotmail.com

Carlos Henrique Nery Costa

Telefone e Fax: (86) 3221 2424

e-mail: secretariaidtnp@gmail.com

INFORMAÇÕES AO VOLUNTÁRIO PARTICIPANTE DA PESQUISA

Estamos convidando você para participar como voluntário de um projeto de pesquisa desenvolvido por pesquisadores desta e de outras instituições brasileiras. Nós discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo.

Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir à vontade de conversar. Pode haver algumas palavras que não entenda ou coisas que você quer que seja explicado mais detalhadamente, porque você ficou mais interessado ou preocupado. Quando tiver qualquer dúvida interrompa a leitura e peça explicação.

A pesquisa tem como objetivo avaliar a resposta da termoterapia no tratamento da leishmaniose tegumentar.

A leishmaniose tegumentar é uma doença causada por um micróbio chamado *Leishmania* que infecta o ser humano por meio da picada de um inseto chamado flebótomo (também conhecido como mosquito palha). A pessoa com essa doença tem feridas na pele e nas mucosas (nariz e boca por exemplo) que não saram. A confirmação da doença é feita geralmente pela “raspagem” e biopsia (retirada de um pequeno pedaço da ferida após anestesia). O exame de Montenegro também deve ser realizado para melhor avaliação. Ele é feito através da injeção de uma pequena quantidade de um líquido, o antígeno de Montenegro, na pele do braço e após dois dias é realizada a avaliação se houve inflamação.

A doença tem cura, mas pode causar deformidades e grandes feridas se não for tratada. No Brasil, o tratamento é fornecido pelo Ministério da Saúde, sem custo para o paciente. O remédio mais usado é o antimoniato de meglumina (o nome comercial é Glucantime). Existem outros remédios usados como a Anfotericina B desoxicolato. A escolha de qual deles será usado depende do estado de saúde geral de cada paciente porque todos os remédios até hoje desenvolvidos para o tratamento da leishmaniose tegumentar têm algum efeito indesejado ou não podem ser usados se o paciente tem determinados problemas de saúde.

No Brasil, faltam pesquisas para descobrir novas opções de tratamento para a leishmaniose tegumentar. Essas pesquisas são importantes para buscar um tratamento que seja menos agressivo, cause menos problemas para o doente seja menos demorado. É por isto que essa pesquisa é importante para avaliar um outro tipo de tratamento para essa doença.

Descrição do estudo

Serão convidados para participar desta pesquisa homens, mulheres e crianças que tenham leishmaniose tegumentar, atendidos no Centro de Referência para leishmaniose que participam do estudo. Não poderão participar da pesquisa, pacientes com feridas nas mucosas e em regiões próximas ao nariz, olhos, boca, ânus e genitais, e também pessoas com mais de dez feridas. Também não poderão participar pacientes que tenham alguma condição clínica grave ou tenham a imunidade baixa.

Caso você concorde em participar da pesquisa você será tratado com um aparelho que aquece a ferida a 50° C por apenas 30 a 60 segundos após anestesia com injeção no local. A anestesia garante que você não sinta dor durante a aplicação do aparelho. Esse aparelho que aquece a ferida e promove a cura da ferida, já é usado para tratar pacientes em outros países com essa e outras doenças, como câncer de pele. O tratamento será completamente supervisionado no hospital e será realizado pela médica Dra. Sheila Viana Castelo Branco, responsável pela pesquisa.

Você será acompanhado através de exame clínico até seis meses após o tratamento, nos dias 14, 30, 90 e 180. É muito importante que você considere se aceita participar do estudo em todas estas datas, até o final. Se durante a avaliação você não curar com o tratamento realizado, você receberá o tratamento com a medicação padrão do Ministério da Saúde chamada Glucantime. Essa medicação é dada através de injeção na veia ou na nádega.

Riscos possíveis

Os possíveis riscos da participação no estudo estão principalmente relacionados às reações adversas da aplicação do aparelho como queimadura, infecção e desconforto após a aplicação. Também é possível que você não tenha boa resposta a esse tratamento e tenha que fazer outro tratamento com remédios, caso você não melhore. Esse último risco também é possível com outros tratamentos.

Armazenamento de amostras biológicas para uso em pesquisas futuras

As amostras de pele que serão utilizadas para confirmar que você tem leishmaniose tegumentar serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência para que possam ser utilizadas em novas pesquisas que precisem de amostras de pacientes com a mesma doença e para avaliação de cura após o tratamento, e assim facilitar o cuidado aos pacientes que sofrem de leishmaniose tegumentar no Brasil e em outras partes do mundo.

Esclarecimentos sobre as garantias aos pacientes que participarem do estudo

1. Você pode pedir esclarecimento aos profissionais de saúde, em qualquer momento, se tiver alguma dúvida em relação à participação na pesquisa, ou sobre riscos, benefícios e resultados.

2. A sua participação nesta pesquisa é totalmente voluntária. Se você não quiser mais participar da pesquisa você pode retirar seu consentimento a qualquer momento. Isto não vai

trazer nenhum prejuízo ao atendimento rotineiro, a que tem direito na unidade de saúde aonde vem sendo tratado. Os responsáveis pelo estudo poderão interromper a participação dos pacientes voluntários neste estudo se eles acharem que esta seja a melhor conduta para você, nesse caso o médico responsável pelo seu tratamento informará a você oportunamente sobre essa decisão e sobre as alternativas que serão oferecidas para continuar o seu tratamento. O centro de atendimento onde você será tratado assume a responsabilidade pelo seu tratamento e pelo tratamento das eventuais complicações que possam se apresentar durante o mesmo.

3. Todas as informações da pesquisa serão sigilosas. Ninguém divulgará o nome dos participantes e os resultados dos exames identificados com o nome dos participantes, a não ser para os pais ou responsáveis, no caso dos menores de idade. Se for solicitado por lei, somente o grupo de estudo, o Ministério da Saúde (Brasil) e os Comitês de Ética terão acesso às informações confidenciais que identificam o paciente pelo nome. Você não será identificado em qualquer relatório ou publicação que resulte deste estudo.

4. Em caso de emergência, se você tiver qualquer dúvida com relação ao tratamento ou se achar que está ocorrendo algum problema relacionado ao estudo, você deverá avisar ao médico imediatamente ou procurar o ambulatório de leishmaniose no Instituto Natan Portella coordenado pela Dra. Sheila Viana Castelo Branco.

5. Durante o acompanhamento você terá direito ao ressarcimento das despesas com transporte para as visitas à unidade de saúde relacionada com a pesquisa.

6. As amostras de pele ou outro material biológico que serão guardadas nos laboratórios dos centros de referência só serão utilizadas para novos estudos após a aprovação dos respectivos comitês de ética em pesquisa e o sigilo sobre as informações particulares de cada pessoa que participou da pesquisa será mantido. Em cada centro serão mantidas as informações de contato de cada um dos pacientes dos quais foram obtidas as amostras caso haja necessidade de informá-lo sobre novos resultados de exames realizados após a finalização do estudo que possam ser de benefício no cuidado da sua saúde.

Dados de identificação do voluntário e do responsável

Nome do paciente: _____ Sexo: M F

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade _____ Estado: _____

CEP _____ Telefone: () _____

Responsável Legal _____ Sexo: M F

Grau de parentesco _____

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, antes de dar o assentimento assinando este documento, entendi a pesquisa, o tratamento que será realizado, as reações, os inconvenientes, os perigos e os eventos adversos que podem acontecer. Entendi também que eu terei que vir para consultas e exames para o seguimento do meu tratamento.

Eu conversei diretamente com profissional de saúde envolvido no estudo que respondeu todas as minhas perguntas em relação ao estudo e voluntariamente aceito participar. Eu autorizo os pesquisadores a utilizarem as anotações médicas a meu respeito para obterem a informação necessária para avaliar a cura e os efeitos adversos do tratamento que está sendo estudado. Autorizo ainda que os pesquisadores guardem minhas amostras de pele e outros materiais obtidos durante este estudo para a realização de pesquisas, para serem realizadas após a finalização do presente estudo.

Eu não quero participar deste estudo e não assinei o assentimento abaixo.

_____	_____
Nome do voluntário	Assinatura ou impressão digital pai/mãe ou do responsável legal pelo menor
____/____/____	às _____ horas
Data	Hora

Eu aceito participar deste estudo e por isto assinei o assentimento abaixo.

_____	_____
Nome do voluntário	Assinatura ou impressão digital pai/mãe ou do responsável legal pelo menor
____/____/____	às _____ horas
Data	Hora

Caso o paciente não seja alfabetizado, uma testemunha independente, se possível identificada pelo paciente, e que não seja o pai/mãe ou representante legal, deve estar presente durante todo o processo de obtenção do termo de assentimento. De qualquer forma, o voluntário participante deve fornecer sua digital no campo de assinatura acima.

Declaração da testemunha:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e a assinatura do mesmo.

_____	_____
Nome da testemunha	Assinatura ou impressão digital da testemunha
____/____/____	às _____ horas
Data	Hora

Declaração do investigador:

Eu expliquei o objetivo deste estudo ao voluntário. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo. Declaro também que o paciente recebeu uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

_____	_____
Nome do investigador	Assinatura do investigador
____/____/____	às _____ horas
Data	Hora

Apêndice D – Instrumento de coleta de dados

Ficha de avaliação projeto de pesquisa “Tratamento da leishmaniose cutânea com termoterapia no Brasil: estudo de eficácia e segurança”

Mestranda Sheila Viana Castelo Branco Gonçalves

Orientador Prof Dr Carlos Henrique Nery Costa

1. Identificação

1.1 Nome _____

1.2 Nome da Mãe _____

1.3 Endereço _____

1.4 Zona Urbana () Rural ()

1.5 Contato (s) _____

2. Perfil socioepidemiológico

2.1 Data de nascimento ___/___/___

2.2 Sexo masculino () feminino ()

2.3 Raça branca () negra () parda () asiática ()

2.4 Naturalidade _____ UF _____

2.5 Procedência _____ UF _____

2.6 Escolaridade Sem Esc () Fund () Medio () Superior () Pos ()

2.7 Renda < 1S () 1S () > 1S e ≤ 3S () >3S ()

2.8 Ocupação _____

2.9 Tipo de moradia Teto palha () telha () outro () Parede barro () tijolo () outro () Fossa não () sim () Piso terra () cimento () outro ()

3. Avaliação clínica

3.1 Número de lesões _____

3.2 Localização da (s) lesão (ões) _____

3.3 Tamanho da (s) lesão (ões) em mm _____

3.4 Duração da (s) lesão (ões) em meses _____

3.5 Leishmaniose prévia sim () não ()

- 3.6 História familiar de leishmaniose sim () não ()
- 3.7 Tipo de lesão pápula () placa() nódulo() úlcera ()
- 3.8 Infecção secundária sim () não ()
- 3.9 Linfonomegalia sim () não ()
- 3.10 Comorbidades sim () não () Quais?_____
- 3.11 Medicações em uso sim () não () Quais?_____
- 3.12 Alergias sim () não () Quais?_____
- 3.13 Tabagismo sim () não ()
- 3.14 Etilismo sim () não ()
4. Exames complementares
- 4.1 Teste de montenegro positivo() negativo() valor mm
- 4.2 Exame direto positivo () negativo ()
- 4.3 Cultura positiva () negativa ()
- 4.4 Histopatológico descrição
- 4.5 PCR positivo () negativo ()
- 4.6 Exames Laboratoriais
- Hemograma_____
- TGO_____
- TGP_____
- Ureia_____
- Creatinina_____
- Sorologia HIV_____
5. Tratamento efetuado

6. Seguimento

6.1 14 dias

6.2 30 dias

6.3 90 dias

6.4 180 dias

7. Eventos adversos

8. Critérios de cura Curado () Melhorado () Falha ()

ANEXOS

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética da



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana com Termoterapia: um ensaio clínico aberto

Pesquisador: Carlos Henrique Nery Costa

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 42693215.0.0000.5214

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.015.779

Data da Relatoria: 20/03/2015

Apresentação do Projeto:

O presente protocolo de pesquisa se propõe a estudar a leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida ao homem pela picada de mosquitos flebotomíneos, especificamente a eficácia da termoterapia com radiofrequência em tratar a LTA. A realização do presente estudo justifica-se na importância de se estudar novas opções terapêuticas para a leishmaniose tegumentar com poucos efeitos colaterais, baixa toxicidade, boa tolerância, de fácil aplicação, reduzido tempo de tratamento e custo acessível. Trata-se de um ensaio clínico aberto cuja população alvo é aquela susceptível a adquirir leishmaniose tegumentar americana no Brasil. A população fonte é composta pelos pacientes atendidos no Instituto de doenças tropicais Natan Portella (IDTNP) em Teresina Piauí com suspeita clínica de leishmaniose tegumentar americana. Serão elegíveis para o estudo todos os pacientes com diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana atendidos no IDTNP no período de realização do estudo. Estima-se uma amostra de 50 participantes. Serão incluídos os participantes com diagnóstico clínico de leishmaniose tegumentar americana associado a pelo menos um dos exames complementares: teste de Montenegro positivo e/ou pesquisa direta do parasita na lesão positiva e/ou cultura no meio Neal, Novy e Nicolle (NNN - agar sangue modificado) positiva e/ou exame histopatológico sugestivo de leishmaniose tegumentar e/ou reação em cadeia da

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Município:** TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 1.015.779

polimerase (PCR) positiva. E excluídos os com presença de lesões na mucosa; Presença de mais de dez lesões cutâneas de LTA; Lesões de leishmaniose tegumentar com distância menor que dois cm da órbita; Lesões localizadas no nariz, lábios, olhos, orifício urogenital ou anal ou adjacentes a esses locais; Doença crônica grave; Pacientes imunossuprimidos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a eficácia da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose tegumentar americana.

Objetivo Secundário:

Avaliar a segurança da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose tegumentar americana;

Avaliar a tolerabilidade da termoterapia por radiofrequência no tratamento da leishmaniose tegumentar americana;

Verificar a sensibilidade dos testes diagnósticos na leishmaniose tegumentar americana.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O protocolo descreve os riscos como: "Os possíveis riscos da participação no estudo estão principalmente relacionados às reações adversas da aplicação do aparelho na lesão como queimadura, infecção e pequeno desconforto após a aplicação. Também é possível que o tratamento não seja eficaz e o paciente tenha que realizar o tratamento padronizado pelo Ministério da Saúde. Esse último risco também é possível com os tratamentos tradicionais". Porém, não descreve como contorná-los.

"O principal benefício para o paciente com diagnóstico de leishmaniose cutânea que receber o tratamento localizado com radiofrequência é que ele não será submetido aos riscos e efeitos colaterais da terapia sistêmica com o glucantime ou outras drogas de segunda linha. Além disso a terapia localizada é pouco dolorosa e em poucas sessões, sem necessidade de internação ou monitoramento laboratorial. O foco é evitar que o paciente

com uma doença localizada na pele receba uma intervenção sistêmica que possa acarretar mais riscos que benefícios para ele".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo tem fundamentação na literatura, é relevante pelo problema de saúde pública que aborda sobre a leishmaniose tegumentar americana, bem como, da eficácia da termoterapia com radiofrequência no tratamento desta patologia. Não obstante não preveja diretamente a forma de

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Município:** TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PIAÚÍ - UFPI



Continuação do Parecer: 1.015.779

contornar os riscos, mas considerando os benefícios diretos para o participantes, entendemos cumpridas as exigências da resolução.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa atende parcialmente às Recomendações CNS 466/2012, pois não descreveu como contornar os riscos.

Recomendações:

não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto apto para ser aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

TERESINA, 08 de Abril de 2015

Assinado por:
Adrianna de Alencar Setubal Santos
(Coordenador)

Anexo B – Protocolo de extração do DNA

PROTOCOLO DE FENOL-CLOROFÓRMIO

Para o protocolo Fenol – Clorofórmio os fragmentos de lesão foram macerados, acondicionados em microtubos e ressuspensos em 500µL de tampão de lise (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 25 mM EDTA, 100mM NaCl e SDS 1%) e 20µL de proteinase K (20mg/mL), os quais foram incubados em banho-maria a 56°C por duas horas. Posteriormente, o DNA foi purificado com uma extração de Fenol – Clorofórmio (1:1) e uma vez com Clorofórmio. A precipitação foi feita em Isopropanol Absoluto gelado que permaneceu overnight a -20°C. Em seguida, o Isopropanol foi retirado por centrifugação e inversão de tubos, e foi possível observar o pellet de DNA, o qual foi lavado com Etanol 70%, secado a temperatura ambiente e ressuspensado em 30µL de TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 1 mM EDTA), as amostras foram tratadas com 30µg/mL de RNase, incubadas em banho-maria a 37°C por 60 minutos e armazenadas a -20°C.