

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**

**DAÍSE CRISTIANE CAETANO MARQUES**

**ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS DISPONÍVEIS NO BRASIL PARA  
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL: FORMULAÇÕES  
FARMACÊUTICAS**

**Ouro Preto/MG**

**2019**

DAÍSE CRISTIANE CAETANO MAQUES

**ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS DISPONÍVEIS NO BRASIL PARA  
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL: FORMULAÇÕES  
FARMACÊUTICAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto-MG como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Morais Ruela

**Ouro Preto/MG**

**2019**

M357e Marques, Daíse Cristiane Caetano .  
Estratégias terapêuticas disponíveis no Brasil para tratamento da  
Leishmaniose visceral [manuscrito]: formulações farmacêuticas / Daíse  
Cristiane Caetano Marques. - 2019.

48f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Morais Ruela.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de  
Farmácia. Departamento de Farmácia.

1. Leishmaniose visceral - Tratamento. 2. Agentes antiinfecciosos. I. Ruela,  
André Luís Morais. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 616.993.161(81)

Catálogo: [ficha.sisbin@ufop.edu.br](mailto:ficha.sisbin@ufop.edu.br)

DAÍSE CRISTIANE CAETANO MARQUES

**ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS DISPONÍVEIS NO BRASIL PARA  
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL: FORMULAÇÕES  
FARMACÊUTICAS**

A banca examinadora abaixo-assinada, aprova o Trabalho de conclusão de curso apresentado a Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto-MG como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Aprovada em 28 de junho de 2019.

Prof. Dr. André Luís Morais Ruela

Instituição: Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP-MG

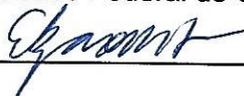
Assinatura \_\_\_\_\_



Profa. Dra. Elza Conceição de Oliveira Sebastião

Instituição: Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP-MG

Assinatura \_\_\_\_\_



Ma. Débora Faria Silva

Instituição: Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP-MG

Assinatura \_\_\_\_\_



## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Aldair e Denise, que sempre acreditaram em mim e me deram total apoio em minha escolha de formação.

Às minhas irmãs Débora e Danielle, minhas incentivadoras e minhas referências de empenho e dedicação.

À minha sobrinha Helena, por sempre entender a distância e me dar o carinho que preciso.

Às minhas amigas-irmãs da Rep. Aconchego por me apoiarem e entenderem essa árdua caminhada.

Aos meus amigos queridos da EFAR, Paulo, Mikaelly e Enara por serem meu apoio, meu astral, ombro amigo e fonte inesgotável de diversão. Sem vocês, esta caminhada não seria a mesma.

Ao Prof. Dr. André Luís Morais Ruela, meu orientador, que me acolheu em momento turbulento e me deu a oportunidade de realizar este trabalho, sempre me dando todo o suporte necessário e aprendizado.

À Escola de Farmácia e Universidade Federal de Ouro Preto pelo ensino público e de qualidade.

## RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença negligenciada e se caracteriza como uma zoonose de evolução crônica que, se não tratada, pode levar ao óbito em até 90% dos casos. O objetivo desta revisão de literatura foi elaborar um estudo sobre as estratégias terapêuticas disponíveis no Brasil para tratamento da LV. O antimoniato pentavalente de N-meglumina é um fármaco usado há décadas como primeira linha de tratamento da LV. Além da atividade leishmanicida, os antimoniais podem induzir respostas pró-inflamatórias que desempenham um importante papel no controle da progressão da LV. O fármaco antifúngico anfotericina B possui amplo espectro de atividade, sendo usado no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas graves e também no tratamento de segunda escolha das leishmanioses. As formulações de anfotericina B convencionalmente usadas no tratamento da LV são suspensões do fármaco contendo o sal biliar desoxicolato de sódio. Esta terapia comumente resulta em efeitos adversos graves, como a insuficiência renal. Com o advento da nanotecnologia e novos sistemas de liberação, delinearam-se novas estratégias terapêuticas para administração da anfotericina B, tais como os complexos lipídicos e os lipossomos unilamelares. Apesar destas formulações lipídicas da anfotericina B apresentarem um perfil de segurança maior, com destaque a formulação lipossomal, existe uma diferença bastante expressiva no custo entre os medicamentos, o que impede sua ampla utilização no tratamento da LV nos países em desenvolvimento, como ocorre no Brasil. Além disso, a falta de alternativas intercambiáveis entre os medicamentos disponíveis no Brasil, do tipo genérico ou similar, é outro ponto que demonstra a fragilidade das estratégias terapêuticas para tratamento da LV.

**Palavras-chave:** Tratamento; leishmaniose visceral; antimoniato de N-metilglucamina; anfotericina B

## ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is an important neglected disease that has been characterized as a chronic evolutionary zoonosis leading to death in up to 90% of cases if untreated. The aim of this review was to elaborate a study on the therapeutic strategies available in Brazil for the treatment of VL. Meglumine antimoniate is a drug that has been used for decades as the first line of VL treatment. In addition to leishmanicidal activity, antimoniate may induce pro-inflammatory responses that play an important role in controlling the progression of VL. Antimoniate exhibits cardiotoxicity, hepatotoxicity, and nephrotoxicity that have been limiting its use. Amphotericin B (AmB) is an antifungal medication with a broad spectrum of activity, and it has been used in the treatment of systemic fungal infections and in the second line of leishmaniasis treatment. The amphotericin B formulations conventionally used in the treatment of VL are AmB suspensions with sodium bile salt deoxycholate. This therapy usually results in serious adverse effects, inducing nephrotoxicity. From the advent of nanotechnology, novel delivery systems emerged as therapeutic strategies for AmB administration, such as lipid complexes and unilamellar liposomes. Although these lipid formulations with AmB present an enhanced safety profile, mainly the liposomal formulation, the expansive costs of these two medicines limited their wide use in practical clinical in the treatment of VL in endemic regions of developing countries, as occurs in Brazil. In addition, the lack of interchangeable alternatives available in Brazil, such as generic and similar drugs, is another point that demonstrates the fragility of the therapeutic strategies for VL treatment.

**Keywords:** Treatment; visceral leishmaniasis; N-methylglucamine antimoniate; amphotericin B.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ciclo de vida dos parasitas do gênero <i>Leishmania</i> no hospedeiro invertebrado e no homem. ....	15
Figura 2 -	Porcentagem de ocorrência das diferentes formas clínicas da LV .....	16
Figura 3 -	Casos de leishmaniose visceral, segundo países com maior ocorrência de casos nas Américas. ....	17
Figura 4 -	Casos de leishmaniose visceral por regiões brasileiras.....	19
Figura 5 -	Estrutura antimoniato de N-metilglucamina .....	27
Figura 6 -	Estrutura da anfotericina B .....	30
Figura 7 -	Organização estrutural do complexo lipídico da anfotericina B ..	34
Figura 8 -	Organização estrutural do lipossoma unilamelar .....	36

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Evolução clínica da LV.....	20
Quadro 2 -	Fatores associados ao óbito por LV.....	23
Quadro 3 -	Escores clínico e clínico-laboratorial no diagnóstico da LV .....	24
Quadro 4 -	Apresentação e dose e via de aplicação dos principais medicamentos disponíveis atualmente para o tratamento da LV no Brasil.....	26
Quadro 5 -	Laboratórios registrados para comercialização do antiomoniato de N-metilglucamina. ....	28
Quadro 6 -	Medicamentos contendo anfotericina B registrados pela Anvisa	31
Quadro 7 -	Indicações do uso de anfotericina B lipossomal .....	40
Quadro 8 -	Contraindicações para uso de antimoniatos e anfotericina B .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

LV – leishmaniose visceral

SUS – Sistema único de saúde

LTA – leishmaniose tegumentar americana

OPS/MS – organização pan-americana de saúde/ministério da saúde

PVC/LV – programa de vigilância e controle da leishmaniose visceral

SISLEISH – sistema de informação regional de leishmanioses

RIFI – imunofluorescência indireta

ELISA – ensaio de imunoabsorção enzimática

qPCR- reação em cadeia da polimerase

IV – intravenosa

IM – intramuscular

ECG – eletrocardiograma de repouso

DMPC - dimiristil fosfatidilcolina

DMPG - dimiristil fosfatidilglicerol

UV-Vis – ultravioleta-visível

LD<sub>50</sub> – dose letal mediana

HDL – lipoproteína de alta densidade

LDL – lipoproteína de baixa densidade

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Farmacocinética das formulações lipídicas de anfotericina B ..	39
Tabela 2 -	Aspectos farmacoeconômicos .....	41

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2.1	OBJETIVO GERAL .....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
3	METODOLOGIA .....	13
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
4.1	ASPECTOS GERAIS DA DOENÇA .....	14
4.1.1	Epidemiologia da doença .....	16
4.1.2	Diagnóstico clínico .....	19
4.1.3	Diagnóstico laboratorial .....	21
4.2	SCORE CLÍNICO E CLÍNICO LABORATORIAL .....	21
4.3	ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS .....	24
4.4	ASPECTOS ECONOMICOS DOS MEDICAMENTOS DISPONÍVEIS .....	41
4.5	CRITÉRIOS DE CURA E TRATAMENTO SUPORTE .....	42
5	CONCLUSÕES .....	43
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças negligenciadas são aquelas consideradas endêmicas em populações que apresentam baixa renda e são causadas por agentes infecciosos ou parasitas. Essas doenças apresentam indicadores impróprios e baixo investimento em pesquisa, controle e produção de medicamentos. Exemplos dessas doenças no Brasil e no mundo são a doença de Chagas, dengue, esquistossomose e leishmaniose visceral (LV). Dentre essas doenças, a LV ou calazar se caracteriza como uma zoonose de evolução crônica que, se não tratada, pode levar ao óbito até 90% dos casos. A doença está em crescente expansão, principalmente, nos países da América do Sul (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

No Brasil, o antimoníato pentavalente de N-meglumina é o fármaco de primeira linha utilizado para o tratamento da LV no Brasil há décadas. Além da atividade leishmanicida, os antimoniais podem induzir respostas pró-inflamatórias que desempenham um importante papel no controle da progressão da LV (ALVARENGA et al, 2010; PELISSARI, 2011). O fármaco de segunda escolha é o antifúngico anfotericina B, que possui amplo espectro de atividade, sendo usado tanto no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas graves quanto para tratar leishmanioses. Entretanto, o uso deste último é limitado pelo estreito índice terapêutico, em decorrência dos seus efeitos adversos. É comum a terapia com anfotericina B resultar em efeitos adversos como febre e calafrios, que podem ser tratados, permitindo a manutenção do tratamento. Outros efeitos adversos podem ser suficientemente graves para implicar na modulação da dose do fármaco ou até mesmo impedir a continuação do tratamento, tais como a insuficiência renal em associação com azotemia, acidose tubular renal e capacidade de concentração urinária prejudicada, resultando em desequilíbrio eletrolítico (HIEMENZ; WALSH, 1996; TORRADO et al, 2008; AZANZA; SÁDABA; REIS, 2015).

A formulação convencionalmente usada para administração sistêmica de anfotericina B usada no tratamento da LV são suspensões do fármaco contendo o sal biliar desoxicolato de sódio. Com o advento da nanotecnologia e novos sistemas de liberação, delinearam-se novas estratégias terapêuticas para administração deste fármaco, tais como os complexos lipídicos e lipossomos. Apesar das estratégias

inovadoras apresentarem maior custo, o que pode limitar sua utilização, sobretudo em países em desenvolvimento, estas formulações permitem reduzir a incidência de efeitos adversos graves, notavelmente aqueles associados ao acúmulo do fármaco no tecido renal (LEITE; ARAÚJO, 2013; AZANZA; SÁDABA; REIS, 2015; AULTON, TAYLOR, 2016).

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão sistemática e exploratória sobre as estratégias terapêuticas disponíveis comercialmente no Brasil para o tratamento da LV. Para isso, uma abordagem sobre os fármacos e medicamentos disponíveis no sistema único de saúde (SUS), antimoniato de N-meglumina e anfotericina B, foi concebida, sendo que no caso da anfotericina B foi elaborada uma discussão acerca das três formulações disponíveis para uso endovenoso, a saber, dispersão coloidal com desoxicolato de sódio, complexo lipídico e formulação lipossomal.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Realizar uma revisão sistemática abordando as estratégias terapêuticas disponíveis no Brasil para o tratamento da LV, com foco nas formulações farmacêuticas disponíveis comercialmente.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- i) Revisar a etiologia, epidemiologia e diagnóstico clínico-laboratorial da LV;
- ii) Apresentar o escore clínico e clínico laboratorial da LV;
- iii) Explicitar as estratégias terapêuticas e formulações farmacêuticas disponíveis comercialmente no Brasil para tratar a LV;
- iv) Elaborar um levantamento sobre os aspectos econômicos relacionados aos medicamentos disponíveis para tratamento da LV no Brasil;
- v) Citar os critérios de cura e tratamentos de suporte para LV.

## **3 METODOLOGIA**

Estudo de revisão narrativa, conduzido por buscas nas bases de dados eletrônicos Portal Periódicos CAPES, PubMed e SciELO. Adicionalmente, as pesquisas foram realizadas no site da Anvisa e Conselho Federal de Farmácia, de modo a obter informações técnicas a cerca dos medicamentos disponíveis comercialmente para tratamento da LV. Os termos “leishmaniose visceral”, “anfotericina”, “tratamento” e “antimoniato” foram utilizados no mecanismo de busca, considerando as publicações em português e inglês.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ASPECTOS GERAIS DA LV

As leishmanioses são causadas por protozoários da ordem Kinetoplastida, família *Trypanosomatidae*, do gênero *Leishmania*. Foram descritos pela primeira vez em 1903 por Ross. Estes protozoários são heteroxênicos, ou seja, possuem dois hospedeiros, sendo parasitas intracelulares obrigatórios do sistema fagocitário mononuclear ou sistema reticuloendotelial. Existem duas formas destes protozoários: as formas promastigotas, que se desenvolvem no tubo digestivo do hospedeiro invertebrado e as formas amastigotas que parasitam as células do hospedeiro vertebrado (ALVARENGA et al, 2010; KAYE; SCOTT, 2011).

Os principais vetores da leishmaniose são dos gêneros *Lutzomyia* e *Phlebotomus*. O flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor no Brasil da *Leishmania (Leishmania) infantum*, enquanto que na Europa, Ásia e África, os principais vetores são do gênero *Phlebotomus*, popularmente conhecidos como mosquito-palha, e a espécie de protozoário *Leishmania donovani* é predominante (LAINSON; SHAW, 1978).

A transmissão da doença infecciosa para humanos ocorre por meio da picada de fêmeas de flebotomíneos, com a dilaceração neste momento da pele do hospedeiro (Fig. 1). A partir da picada do inseto vetor, forma-se uma poça subcutânea de sangue, local onde as formas promastigotas metacíclicas do protozoário, que se desprendem do intestino do vetor, são depositadas a partir da regurgitação da saliva do inseto. Em seguida, estas formas invadem os monócitos, as células alvo do hospedeiro, onde no seu interior se transformarão em formas amastigotas, que irão se replicar. Com a replicação das amastigotas no interior dos monócitos, ocorrerá a ruptura dessas células do sistema fagocitário mononuclear e, conseqüentemente, a liberação dessas formas parasitárias que migrarão para outras células alvo e para os macrófagos presentes em vários órgãos (HANDMAN, 2001; NIETO et al, 2011).

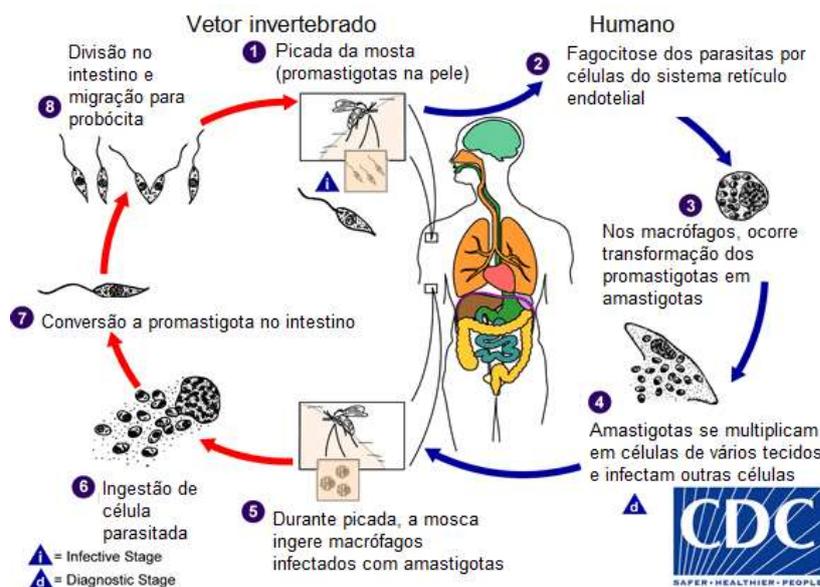
As leishmanioses têm um amplo espectro clínico que pode variar de uma lesão localizada, apresentando cura espontânea, até casos com evolução para uma doença sistêmica generalizada com risco de óbito. As manifestações clínicas das

leishmanioses variam conforme a espécie de *Leishmania* e a sua virulência, bem como a condição clínica do hospedeiro, incluindo seu estado nutricional e sistema imunológico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A organização mundial da saúde (WHO, 2010) considera quatro formas clínicas de leishmaniose: (a) leishmaniose cutânea localizada, (b) leishmaniose cutânea mucosa, doença mutiladora que causa deformidades irreversíveis, principalmente na face, (c) leishmaniose cutânea difusa, forma mais comum, que provoca aparecimento de ulcerações na pele e, por fim, (d) LV. Atualmente, as formas (a), (b) e (c) são denominadas em conjunto como leishmaniose tegumentar americana (LTA) (DESJEUX, 2004).

Dentre as 4 formas clínicas consideradas, a LV é a mais devastadora e letal, sendo estimados 500.00 novos casos por ano, além de 59.000 mortes associadas à doença (DESJEUX, 2004; WHO, 2010). No Brasil, a LV acomete diversas pessoas, de todas as idades, mas 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos (SILVA *et al*, 2001).

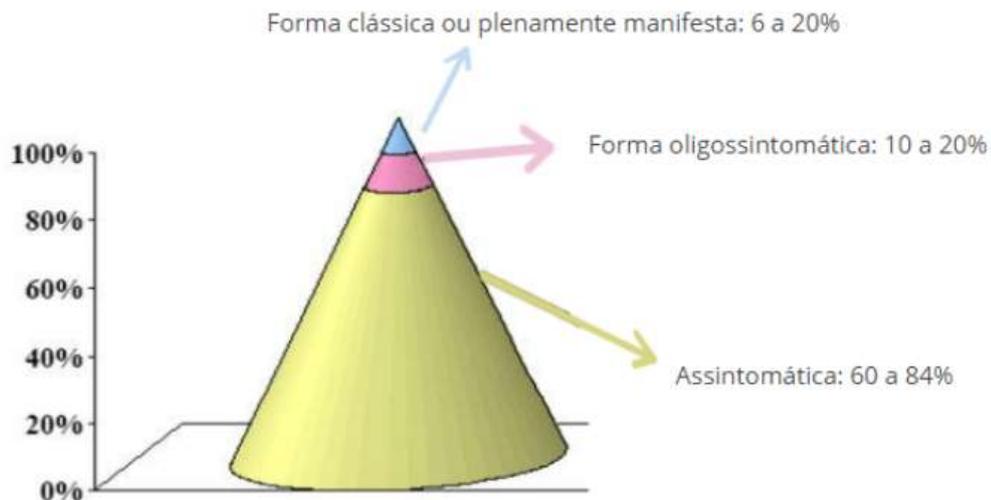
**Fig. 1.** Ciclo de vida dos parasitas do gênero *Leishmania* no hospedeiro invertebrado e no homem.



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (2017).

A LV é classificada em quatro formas clínicas diferentes (Fig. 2): (i) assintomática, (ii) oligossintomática, (iii) sintomática e (iv) sintomática aguda e crônica (BADARÓ et al, 1986a; BADARÓ 1986b; D'OLIVEIRA et al, 1997).

**Fig. 2.** Porcentagem de ocorrência das diferentes formas clínicas da LV.



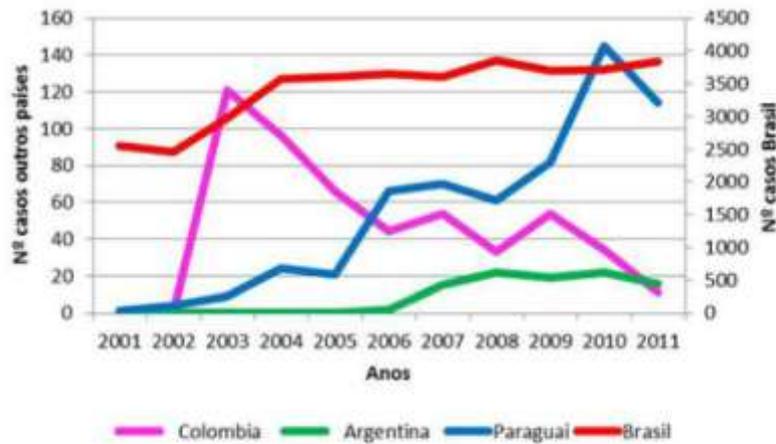
Fonte: Adaptado de Badaró e colaboradores (1986).

#### 4.1.1 Epidemiologia da doença

A distribuição epidemiológica das leishmanioses ocorre de forma multifatorial, ou seja, dependente das características genéticas das cepas e das espécies do parasita. Mais de 90% dos casos reportados ocorrem nos seguintes países: Índia, Bangladesh, Sudão, República do Sudão do Sul, Brasil e Etiópia. O estado nutricional do hospedeiro, bem como seu sistema imunológico são fatores epidemiológicos importantes na evolução clínica da doença, assim como os ecossistemas locais e a exposição humana ao inseto vetor e ao parasita (ALVAR et al, 2012; WHO, 2017).

A LV é endêmica em 12 países da América do Sul e Central, sendo o Brasil, Argentina e Paraguai, os países com franca expansão na transmissão da doença (Fig. 3). Entre o período de 2001 a 2011, 48.720 casos de LV foram registrados, sendo que 96,42% foram reportados no Brasil.

**Fig. 3.** Casos de leishmaniose visceral, segundo países com maior ocorrência de casos nas Américas conforme Organização Panamericana da Saúde e Ministério da Saúde do Brasil (OPS/MS).



Fonte: OPS/OMS - Dados disponíveis pelos programas de controle de leishmanioses dos Países

Apesar de considerada, ainda, uma doença tipicamente rural, as leishmanioses estão em franca expansão para as regiões urbanas, o que é constatado pelo significativo aumento do número de casos em grandes centros urbanos (SILVA et al, 2008; WERNECK, 2008; ARAUJO *et al*, 2012). O cão no contexto epidemiológico representa uma peça chave na transmissão de *L. infantum* para o vetor invertebrado, sendo o principal reservatório urbano da doença (ALVAR et al, 2004).

No Brasil, em 1938, Chagas e colaboradores realizaram um dos primeiros estudos epidemiológicos na região de Abaeté, no estado do Pará, onde relataram uma incidência de 1,48% de infecção humana e 4,49% de infecção canina. Em 1955, Deane e Deane realizaram um estudo no estado do Ceará que revelou a importância do cão como reservatório doméstico do protozoário. Nos últimos anos, pesquisas sobre infecção por *L. infantum* revelaram que o controle da LV humana é altamente dependente do controle da LV canina, tendo em vista que o cão é um importante elo no ciclo de transmissão da doença, principalmente em função da estrita relação homem-cão na sociedade atual (ALVAR et al, 2004).

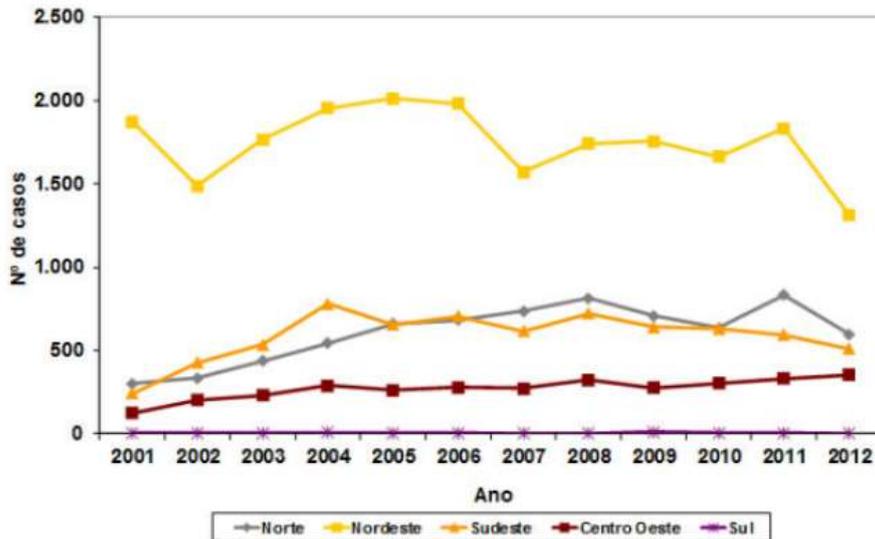
O Brasil é um dos poucos países que mantém um programa ativo de controle da doença, que é definido como Programa de Vigilância e Controle da LV (PVC-LV),

e tem como principais objetivos e diretrizes: i) o diagnóstico e tratamento precoce de todos os casos humanos; ii) o controle vetorial; iii) a eliminação dos reservatórios pelo sacrifício de cães sororeativos e, iiiii) atividades de educação em saúde e conscientização da população (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Apesar dos esforços na tentativa de combater a LV, principalmente a iniciativa do PVC-LV, a doença encontra-se em franca expansão, o que pode estar diretamente relacionado com a periodicidade do ciclo epidemiológico ou com falhas no programa de controle. O PVC-LV apresenta limitações em praticamente todos os pontos propostos, a saber: (a) na pesquisa entomológica há falta de pessoal treinado e de laboratórios de referência em algumas regiões do país; (b) no quesito eliminação do reservatório doméstico, nota-se a demora entre o diagnóstico e o recolhimento para sacrifício dos animais infectados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Outra limitação importante para controle da LV é a baixa sensibilidade e especificidade dos métodos sorológicos empregados, associadas com a reposição imediata de cães pela população (NUNES et al, 2010; QUINNEL et al, 2013).

No Brasil, observou-se um número de casos entre os anos de 2004 e 2012 variando entre 4200 a 6300 casos ao ano (Fig. 4). Destes, 52,1% ocorreram na região Nordeste do país, principalmente em áreas com alta densidade populacional, o que se deve principalmente ao fato do vetor se adaptar melhor a regiões com temperaturas mais elevadas (ALVAR, 2012).

**Fig. 4.** Casos de leishmaniose visceral por regiões brasileiras



Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde do Brasil

Em 2012, os dados disponibilizados no Sistema de Informação Regional de Leishmanioses (SisLeish), indicaram um total de 654 mortes causadas por LV, com uma letalidade média de 6,6% (Fig. 4). Outro dado importante do sistema, é que no ano de 2014, foram reportados 242 (6,68%) casos de coinfeção do HIV e LV nas Américas, sendo 234 casos no Brasil. O diagnóstico laboratorial foi confirmado em 85,7% dos casos e o percentual de cura da LV foi de 66,9% e a porcentagem de óbitos foi de 6,66%. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014)

#### 4.1.2 Diagnóstico clínico

Como mencionado anteriormente, a leishmaniose é uma infecção que ocorre através do depósito de formas promastigotas do parasita sob a pele do hospedeiro pelo vetor. O próprio sistema imune do hospedeiro induz resposta ao parasita que pode ser eficaz, reduzindo a replicação do mesmo e levando a consequente resolução da doença (NIETO et al, 2011). Tal fato pode ser observado nos casos de pacientes infectados assintomáticos. De modo geral, as manifestações clínicas podem variar de acordo com o tempo de evolução da doença e, em sua maior parcela, os infectados desenvolvem uma doença assintomática. Por outro lado, a resposta imune também pode ser ineficaz, quando o parasita consegue se esvaír do sistema imune do

hospedeiro e passa a se replicar, causando assim as manifestações clínicas da doença (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

Segundo a Organização Panamericana da Saúde e Ministério da Saúde do Brasil (OPS/MS), o diagnóstico clínico da LV pode ser dividido em três períodos: (i) período inicial, (ii) período de estado e (iii) período final. No primeiro momento, denominado de fase “aguda”, ocorre o início da sintomatologia com duração inferior a quatro semanas. Este estágio pode variar de paciente para paciente, sendo que nesta fase pode ser bastante útil realizar a manobra de estetoacústica como exame clínico, principalmente em crianças, que podem desenvolver hepatoesplenomegalia.

O período de estado é caracterizado por febres irregulares, emagrecimento progressivo, palidez e aumento da hepatoesplenomegalia, geralmente com mais de dois meses de evolução. Caso não seja diagnosticado e tratado, a doença evolui para o período final, caracterizado por uma piora e generalização dos sintomas das fases anteriores. Outros sintomas reportados são linfadenopatia, anemia com leucopenia, hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia, emagrecimento, edema e estado de debilidade progressivo, levando à caquexia. De forma mais grave, o paciente torna-se sujeito a infecções bacterianas e/ou sangramentos, correndo risco de morte (ALVARENGA et al, 2010).

O quadro 1 compara a evolução clínica de cada fase da doença.

**Quadro 1.** Evolução clínica da leishmaniose visceral.

<b>EVOLUÇÃO CLÍNICA</b>			
<b>Manifestação clínica</b>	<b>Período Inicial</b>	<b>Período de Estado</b>	<b>Período Final</b>
<b>Febre</b>	Sim	Sim	Sim
<b>Emagrecimento</b>	Não	Moderado	Acentuado
<b>Palidez</b>	Leve	Moderada	Acentuada
<b>Hepatomegalia</b>	Leve	Moderada	Acentuada
<b>Esplenomegalia</b>	Leve	Moderada	Acentuada
<b>Hemorragias</b>	Não	Incomum	Frequente
<b>Sorologia</b>	Positiva	Positiva	Positiva

### 4.1.3 Diagnóstico laboratorial

De acordo com a OPS/MS (2013), quando o paciente apresenta sintomatologia clínica e resultado laboratorial positivo (determinado, sobretudo, pela avaliação da função hepática), o diagnóstico de LV é complementado pela solicitação de teste sorológico. Entretanto, ressalta-se que exames laboratoriais positivos na ausência de sintomas clínicos não são suficientes para que o tratamento seja iniciado.

O diagnóstico da LV pode ser complementado por meio de testes sorológicos para detecção de anticorpos, sendo uma das técnicas utilizadas a imunofluorescência indireta (RIFI). Também podem ser usados ensaios imunoenzimáticos, como a ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* ou ensaio de imunoabsorção enzimática).

O diagnóstico parasitológico, como a punção aspirativa esplênica, também é utilizado na triagem de LV, sendo o procedimento considerado seguro e o método de alta sensibilidade (90-95%). Após a punção do baço do paciente, o material é processado e é feita a contagem das formas amastigotas nos esfregaços em lâminas. Outros exames como aspirado de medula óssea, biópsia hepática e aspiração de linfonodos também são utilizados no diagnóstico laboratorial de LV.

Um método promissor que emergiu no diagnóstico da doença é a reação em cadeia da polimerase (qPCR), que amplifica o DNA do parasita, apresentando sensibilidade de 94%. Os resultados deste método devem ser analisados juntamente com a área endêmica do paciente, tipo de amostra e o método de extração do DNA (SOUZA et al, 2013).

## 4.2 ESCORE CLÍNICO E CLINICO-LABORATORIAL DA LV

A LV é uma doença grave e com um grau de letalidade alto, portanto o diagnóstico e tratamento devem ser efetuados o mais rápido possível para que o paciente tenha maior chance de sobrevivência. Por isso, os escores se tornam uma ferramenta de fundamental importância para definir o melhor tratamento a ser selecionado para cada paciente (ALVARENGA *et al*, 2010; LEITE; ARAÚJO, 2013).

A avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais é imprescindível para a escolha correta do tratamento. Estudos avaliaram que fatores clínicos e laboratoriais são importantes se analisados conjuntamente, pois em separado não definem a gravidade nem a letalidade da LV. Sendo assim, a classificação baseada em escores foi criada para identificar pacientes com maior risco de óbito.

A definição dos fatores de risco associados ao óbito por LV pode ser baseada na classificação do grau de recomendação, fundamentada nos centros de medicina baseada em evidências do *National Health Service* da Inglaterra. A classificação do grau de recomendação está listada a seguir:

- *Nível A*: estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.
- *Nível B*: estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.
- *Nível C*: relatos de casos e estudos não controlados.
- *Nível D*: opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

O estudo que validou este modelo, aponta que os pacientes com LV apresentando escores iguais ou maiores a 4 com base apenas nos critérios clínicos, ou com pontuação maior ou igual a 6, com base nos critérios clínicos e laboratoriais tem risco de óbito aumentado.

O quadro 2 apresenta os fatores associados ao óbito por LV e o seu grau de recomendação e o quadro 3 apresenta os escores clínico e clínico-laboratorial.

**Quadro 2.** Fatores associados ao óbito por LV.

<b>Fatores associados</b>	<b>Nível de evidência (referência)</b>
Idade Inferior a 1 ano	B (1)
Idade superior a 40 anos	B (1)
Infecção bacteriana	B (1,2,3,4,5)
Recidiva ou reativação da LV	D
Presença de diarreia ou vômitos	B (1,4,6)
Edema	B (1)
Febre a mais de 60 dias	B (7,8)
Icterícia	B (1,4)
Fenômenos hemorrágicos	B (1,5,9,10)
Sinais de toxemia	B (1)
Desnutrição grau III (marasmo/Kwashiorkor)	C (1,4)
Comorbidades	B (1,4)
Leucócitos < 1.000/mm <sup>3</sup>	D (1)
Neutrófilos <500/mm <sup>3</sup>	D (3)
Plaquetas < 50.000/mm <sup>3</sup>	B (1)
Hemoglobina <7,0 g/Dl	B (1,4,7,9)
Creatinina sérica acima do valor de referência para a idade	D
Atividade de protrombina <70% ou INR>1,14	D(5)
Bilirrubina acima do valor de referência	B (1,8)
Enzimas hepáticas (ALT/AST) acima de cinco vezes o maior valor de referência	D (5)
Albumina < 2,5 g/dL	D (7)

Fonte: National Health Service, Inglaterra; Ministério da Saúde, 2011.

**Quadro 3.** Escores clínico e clínico-laboratorial no diagnóstico da LV.

<b>Fatores associados</b>	<b>Peso da variável no modelo clínico</b>	<b>Peso da variável no modelo clínico e laboratorial</b>
<b>Idade</b>		
<b>2-20 anos</b>	-	-
<b>20-40 anos</b>	1	1
<b>&gt;40 anos</b>	2	2
<b>Sangramento</b>		
<b>1-2 sítios</b>	1	1
<b>3-4 sítios</b>	2	2
<b>5-6 sítios</b>	3	3
<b>Aids</b>	2	3
<b>Edema</b>	1	1
<b>Icterícia</b>	1	1
<b>Dispneia</b>	1	1
<b>Infecção bacteriana</b>	1	1
<b>Leucócitos abaixo de 1.500/mm<sup>3</sup></b>	-	2
<b>Plaquetas abaixo de 50.000/mm<sup>3</sup></b>	-	3
<b><sup>1</sup>Insuficiência renal</b>	-	3
<b>Pontuação máxima</b>	11	20

Nota: <sup>1</sup>Taxa de filtração glomerular abaixo de 60 mL/min/m<sup>2</sup> ou creatinina sérica acima dos níveis superiores para a idade.

Fonte: National Health Service, Inglaterra; Ministério da Saúde, 2011.

### 4.3 ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Para a definição de um tratamento para a LV, deve-se levar em conta fatores importantes tais como a faixa etária do paciente, gestação, comorbidades presentes e escores clínicos e laboratoriais. É importante ressaltar que a LV é uma doença negligenciada e que as estratégias terapêuticas são, conseqüentemente, limitadas, sendo que em alguns casos, os medicamentos disponíveis foram delineados para outra indicação, porém também se mostraram úteis para o tratamento da LV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017)

Conforme o quadro 4, os quatro medicamentos disponíveis atualmente para tratamento da LV no Brasil são: o antimoniato de meglumina (antimoniato de N-metilglucamina, sendo a prescrição baseada no dose do antimônio pentavalente), que se encontra disponível somente na forma farmacêutica de solução injetável 300 mg/mL para administração intravenosa (IV) ou intramuscular (IM) (Glucantime®, Sanofi-Aventis); a anfotericina B, que aparece em três apresentações para infusão endovenosa: a anfotericina B dispersão coloidal com desoxicolato de sódio, considerada a formulação convencional para administração IV do fármaco, que se apresentando como um pó líofilo que deve ser previamente diluído em água para injetáveis (Anforicin B®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.); anfotericina B em complexo lipídico na forma farmacêutica de suspensão estéril a 5 mg/mL (Abelcet®, Teva Farmacêutica) e a anfotericina B lipossomal na forma de pó liofilizado injetável 50 mg/12 mL (Ambisome®, United Medical).

O primeiro composto à base do metal pesado antimônio pentavalente foi desenvolvido por Bramachari em 1920, sendo um derivado ureico do ácido p-aminofenil estibínico chamado de ureia estibamina. No Brasil o fármaco utilizado desta classe é o antimoniato de N-metilglucamina (Figura 5), que é um composto obtido sinteticamente a partir da aminação redutora da glicose em presença de metilamina. É o fármaco de primeira escolha para tratar a LV em regiões endêmicas como o Brasil, principalmente devido ao baixo e a administração por via IM, quando comparado às formulações de anfotericina B (ALVARENGA et al, 2010).

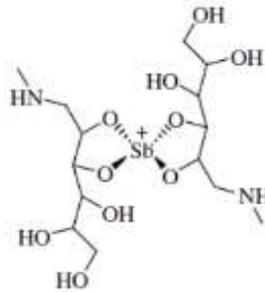
Entre os medicamentos disponíveis para tratar a LV, nota-se que o antimoniato pentavalente pode ser administrado em âmbito ambulatorial por via IM, reduzindo os riscos da hospitalização, porém o esquema posológico associado aos efeitos adversos muitas vezes leva a redução da adesão dos pacientes ao tratamento.

**Quadro 4.** Apresentação e dose e via de aplicação dos principais medicamentos disponíveis atualmente para o tratamento da LV no Brasil.

<b>Antimoniato de N-metil glucamina</b>	
<b>Apresentação</b>	Ampolas de 5 mL contendo 1.500mg (300 mg/mL) de antiomoniato de N-metil glucamina, equivalente a 405 mg (81 mg/mL) de antimônio pentavalente (Sb <sup>+5</sup> )
<b>Dose e via de administração</b>	LV: 20mg/ Sb <sup>+5</sup> /kg/dia por via endovenosa ou intramuscular, uma vez ao dia, durante 30 dias. A dose prescrita refere-se ao antimônio pentavalente (Sb <sup>+5</sup> ). Dose máxima de 3 ampolas ao dia
<b>Desoxicolato de anfotericina B</b>	
<b>Apresentação</b>	Frasco com 50 mg de desoxicolato sódico de anfotericina B liofilizada
<b>Dose e via de administração</b>	LV: 1 mg/kg/dia por infusão venosa durante 14 a 20 dias. A decisão quanto à duração do tratamento deve ser baseada na evolução clínica, considerando a velocidade da resposta e a presença de comorbidades. Dose máxima diária de 50mg
<b>Anfotericina B lipossomal</b>	
<b>Apresentação</b>	Frasco/ampola com 50 mg de anfotericina B lipossomal liofilizada
<b>Dose e via de administração</b>	LV: 3 mg/kg/dia, durante 7 dias ou 4 mg/kg/dia, durante 5 dias em infusão venosa, em uma dose diária.
<b>Anfotericina B complexo lipídico</b>	
<b>apresentação</b>	Frasco-ampola de 20 mL de suspensão injetável estéril
<b>Dose e via de administração</b>	LV: 3 mg/kg/dia por 5 a 10 dias em uma única infusão diária

Fonte: Ministério da Saúde (2009).

**Fig 5.** Estrutura antimoníato de N-metilglucamina



O mecanismo de ação do antimoníato de N-metilglucamina ainda não está totalmente elucidado, mas sua utilização provoca regressão rápida das manifestações clínicas e hematológicas da LV. Sugere-se que o antimônio pentavalente possa ser um pró-fármaco, sendo convertido a antimônio trivalente ( $Sb^{3+}$ ) após sua administração, sendo esta espécie responsável pelos principais efeitos tóxicos, sobretudo, no fígado, rins e coração. A ação do fármaco pode relacionar-se à inibição seletiva de enzimas de *Leishmania spp*, bem como a inibição de fosfofrutoquinase, com bloqueio subsequente da produção de adenosina trifosfato (RATH, 2003).

Apesar do emprego há mais de 50 anos do antimoníato de N-metilglucamina no tratamento da LV, a OMS preconiza que as doses não ultrapassem 20/mg/kg/dia por IV ou IM para todas as formas de leishmaniose, devido à alta toxicidade apresentada pelos antimoniais (RATH, 2003). O Glucantime® é contraindicado em casos de cardiopatas, doença renal ou hepática, bem como em pacientes com pancreatite, pneumonia, que fazem uso de betabloqueadores e drogas antiarrítmicas e em mulheres grávidas nos dois primeiros trimestres de gestação. Os efeitos colaterais podem ser transitórios ou até muito graves, com complicações levando ao óbito. O eletrocardiograma de repouso (ECG) é recomendável antes de iniciar o tratamento devido a cardiotoxicidade do antimoníato de N-metilglucamina (ALVARENGA et al, 2010).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira V (2010), o antimoníato de meglumina é constituído do sal de antimônio pentavalente de N-metilglucamina. Contém, no mínimo, 26% e, no máximo, 28% de antimônio pentavalente ( $Sb^{5+}$ ) em relação ao antimoníato de meglumina. Apresenta-se como pó branco ou levemente amarelo. É

solúvel em água, praticamente insolúvel em etanol, éter etílico e clorofórmio (ANVISA, 2010).

Atualmente, somente um laboratório possui registro ativo deste fármaco no Brasil, conforme pode ser observado no Quadro 4.

**Quadro 5.** Laboratórios registrados para comercialização do antimoniato de N-metilglucamina.

Nome do Produto	Nome da Empresa Detentora do Registro – CNPJ	Situação	Vencimento
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA	EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A. - 61.190.096/0001-92	Caduco/Cancelado	03/2006
GLUCANTIME	SANOFI-AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA - 02.685.377/0001-57	Válido	08/2021
LQFE-ANTIMONIATO DE MEGLUMINA	LABORATÓRIO QUÍMICO FARMACÊUTICO DO EXÉRCITO - 00.394.452/0001-03	Caduco/Cancelado	07/2010
MEGLUXIL	SILVESTRE LABS QUÍMICA E FARMACÊUTICA LTDA - 33.019.548/0001-32	Caduco/Cancelado	05/2004

Fonte: Anvisa (2019), disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>.

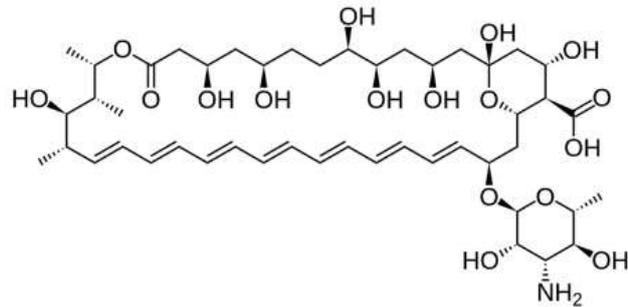
Conforme Sundar (2001), até os anos 1980, a dose de antimoniato pentavalente 10 mg/kg por períodos curtos (6-10 dias) era usada, porém após relatos de ineficácia clínica e possibilidade de resistência do parasita ao fármaco, a dose foi aumentada para 20 mg/kg por 30-40 dias. A falha terapêutica pode estar relacionada a fatores mediados pelo parasita e também ao fato de que muitos pacientes abandonam o tratamento, principalmente pelo fato das doses serem administradas em ambulatório e por ser um tratamento longo, o que deve favorecer a emergência de cepas resistentes.

Quanto à farmacocinética, o antimoniato de N-metilglucamina é extensamente eliminado na forma inalterada na urina (mais de 80% da dose administrada é excretada em até 24 horas). A eliminação se dá em duas fases, sendo a primeira com meia-vida mais curta, de aproximadamente 2 horas e a segunda fase, com meia-vida mais lenta, com cerca de 76 horas.

As formulações de soluções estéreis injetáveis do antimoníato de N-metilglucamina do medicamento referência Glucantime® são compostas de metabissulfito de potássio (antioxidante), sulfito de sódio (antioxidante) e água para injetáveis (veículo).

A anfotericina B é um antimicrobiano e fungicida que atua se ligando no esterol da membrana lipídica fúngica e causando uma mudança de permeabilidade. A partir disso, ocorre extravasamento dos componentes intracelulares, resultando em um efeito fungicida deste fármaco (HAMILL, 2013). A molécula foi isolada em 1953 a partir do *Streptomyces nodosus* e foi introduzida na clínica no início da década de 1960. Desde então, tornou-se viável para o tratamento de candidíase invasiva grave bem como outras infecções fúngicas sistêmicas graves. A anfotericina B no tratamento da LV é recomendada como fármaco de segunda escolha, sobretudo, nos casos não responsivos ao tratamento com antimoníato pentavalente ou quando este é contraindicado (MISTRO et al, 2012).

Quimicamente, a anfotericina B (Fig. 6) é uma molécula anfipática que possui 37 carbonos, possuindo uma porção de sua estrutura hidrofílica (cadeia polihidroxilada com sete grupos hidroxila livres) e outra porção hidrofóbica (cadeia de duplas ligações conjugadas não-substituídas, ou heptaeno). É praticamente insolúvel em água e etanol e solúvel em propilenoglicol. O grupamento ácido carboxílico da sua estrutura apresenta pKa 5.5, enquanto o grupamento amina livre no resíduo de micosamina em uma das extremidades da molécula apresenta pKa 10,0. Apresenta-se com um pó de coloração amarelo a alaranjado, degradando-se termicamente a temperaturas superiores a 170 °C (MESA-ARANGO, 2012; MOFFAT, 2011).

**Fig. 6.** Estrutura da anfotericina B

A anfotericina B é pouco absorvida após administração oral, provavelmente devido ao peso molecular elevado (924,079 g/mol). É lentamente excretada pela urina, com menos de 10% da dose sendo excretada na forma inalterada. Observa-se a excreção de até 40% da dose administrada na urina após 7 dias, sendo traços detectáveis na urina por até dois meses após a cessação do tratamento (MOFFAT, 2011)

Atualmente no Brasil, estão registradas três apresentações de anfotericina B para administração sistêmica, sendo todas elas formulações injetáveis para uso endovenoso: pó líofilo estéril contendo o sal biliar desoxicolato de sódio (Anforicin B®, Cristália Produtos Químico Farmacêuticos Ltda), formulação de complexo lipídico com dimiristil fosfatidilcolina (DMPC) e dimiristil fosfatidilglicerol (DMPG) (Abelcet®, Teva Farmacêutica Ltda.) e formulação contendo o fármaco incorporado em lipossomas (Ambisome®, United Medical Ltda.). Destes, somente as duas últimas apresentações citadas (formulação de complexo lipídico e fármaco vetorizado em lipossomas) são indicadas no tratamento da LV nos casos em que há comprometimento da função renal do paciente, uma vez possuem eficácia comparável a formulação convencional, porém apresentando reduzida toxicidade no tecido renal. Formulações de anfotericina B em complexo lipídico com colesteril sulfato (Amphocil®, Zodiac) tem organização dos lipídeos diferente das demais, formando uma dispersão coloidal. Entretanto, o registro do medicamento comercializado no Brasil cessou em 2015 e sua comercialização foi descontinuada. Por isso, esta formulação não será foco de discussão neste trabalho. O quadro 6 apresenta os medicamentos contendo anfotericina B com registros ativo e inativo no Brasil.

**Quadro 6.** Medicamentos contendo anfotericina B registrados pela Anvisa.

<b>Nome do Produto</b>	<b>Nome da Empresa Detentora do Registro – CNPJ</b>	<b>Situação</b>	<b>Vencimento</b>
ABELCET	Laboratórios Bagó do Brasil S/A - 04.748.181/0009-47	Caduco/Cancelado	05/2019
ABELCET	MERCK S/A - 33.069.212/0001-84	Caduco/Cancelado	05/2014
AMBISOME	UNITED MEDICAL LTDA - 68.949.239/0001-46	Válido	05/2022
ABELCET	TEVA FARMACÊUTICA LTDA. - 05.333.542/0001-08	Válido	12/2020
AMPHOCIL	ZODIAC PRODUTOS FARMACÊUTICOS S/A - 55.980.684/0001-27	Caduco/Cancelado	09/2009
AMPHOCIL	ZODIAC PRODUTOS FARMACÊUTICOS S/A - 55.980.684/0001-27	Caduco/Cancelado	09/2015
ANFOLIP B	INSTITUTO BIOQUÍMICO INDÚSTRIA FARMACÊUTICA LTDA - 33.258.401/0001-03	Caduco/Cancelado	09/2013
ANFORICIN B	CRISTÁLIA PRODUTOS QUÍMICOS FARMACÊUTICOS LTDA. - 44.734.671/0001-51	Válido	07/2019
ANFOTERICINA B	EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A. - 61.190.096/0001-92	Caduco/Cancelado	12/2006
ANFOTERICINA B	LABORATÓRIO TEUTO BRASILEIRO S/A - 17.159.229/0001-76	Caduco/Cancelado	05/2002
ANFOTERICINA B	NEOLATINA COMÉRCIO E INDÚSTRIA FARMACEUTICA S.A - 61.541.132/0001-15	Caduco/Cancelado	04/2004
ANFOTERIN	LABORATÓRIO TEUTO BRASILEIRO S/A - 17.159.229/0001-76	Caduco/Cancelado	10/2007
ANFOTERON	SANVAL COMÉRCIO E INDÚSTRIA LTDA - 61.068.755/0001-12	Caduco/Cancelado	09/2002
FUNGI B	EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A. - 61.190.096/0001-92	Caduco/Cancelado	03/2011
FUNGIZON	BRISTOL-MYERS SQUIBB FARMACÊUTICA LTDA - 56.998.982/0001-07	Caduco/Cancelado	08/2008
FUNTEX B	CIPLA BRASIL IMPORTADORA E DISTRIBUIDORA DE MEDICAMENTOS LTDA - 18.268.051/0001-64	Caduco/Cancelado	10/2018
FUNTEX B	UCB BIOPHARMA LTDA. - 64.711.500/0001-14	Caduco/Cancelado	10/2018
UNIANF	UNIÃO QUÍMICA FARMACÊUTICA NACIONAL S/A - 60.665.981/0001-18	Caduco/Cancelado	06/2021

Fonte: Anvisa (2019)

Anforicin B® (Cristália Produtos Químico Farmacêuticos Ltda) é considerada a formulação convencional disponível no Brasil, apresentando-se na forma de pó líofilo para utilização após reconstituição. Conforme informações do fabricante, constantes na bula do medicamento, a formulação está indicada no tratamento da leishmaniose mucocutânea. Entretanto, na prática clínica, é também usada no tratamento da LV. As formulações de pó líofilo estéril destes medicamentos contêm 50 mg de anfotericina B e uma mistura de excipientes composta pelo sal biliar desoxicolato de sódio e por adjuvantes para ajuste de pH (fosfato de sódio dibásico, fosfato de sódio monobásico, hidróxido de sódio e ácido clorídrico). O diluente utilizado para reconstituição é a água para injetáveis, o que acompanha os produtos em ampolas de 10 mL. O desoxicolato atua como um agente solubilizante na formulação, favorecendo a formação de micelas menores que 100 nm em que o fármaco se encontra solubilizado dentro do núcleo hidrofóbico (TORRADO et al, 2008; AULTON, TAYLOR, 2016). A administração é realizada somente por infusão IV lenta, por um período de 2 a 6 horas, sendo recomendável a infusão da concentração de 0,1 mg/mL após diluição em solução aquosa de glicose a 5%.

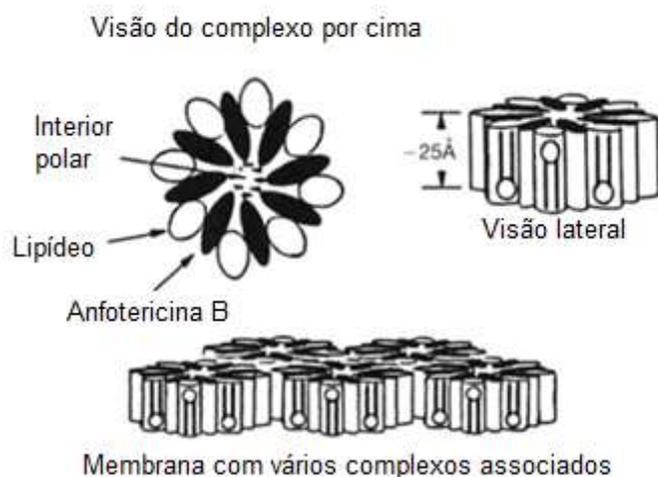
A formulação original contendo anfotericina B formando uma dispersão coloidal com desoxicolato de sódio foi o Fungizone® em 1958, em que a razão molar fármaco: desoxicolato é 1:2 (TORRADO et al, 2008). A terapia com anfotericina B neste tipo de formulação pode apresentar diversas reações adversas agudas, tais como febre, tremores, náuseas, vômitos, dor de cabeça e expressivo grau de disfunção renal (SCHÖFFSKI et al, 1998; NUCCI et al, 1999; WALSH et al, 1999; MORA-DUARTE et al, 2002). A toxicidade está relacionada a quantidade de fármaco livre na circulação. Entre os efeitos adversos de maior gravidade do fármaco, destaca-se a toxicidade renal, o que pode causar a redução da dose de anfotericina B durante o tratamento ou até mesmo sua interrupção. Um estudo conduzido por Varlam e colaboradores (2001) com células renais de ratos, sugeriu que o fármaco induzia apoptose em células tubulares renais e em células intersticiais. Cerca de 90% de apoptose e necrose foram observadas com a concentração máxima utilizada (5,0 mg/mL) e, em doses menores, uma porcentagem menor de apoptose foi relatada. Conforme Torrado e colaboradores (2008), a incidência de falência renal aguda é muito alta (cerca de 30% usando a formulação convencional), o que aumenta a taxa de mortalidade e as complicações, gerando custos secundários ao tratamento do paciente.

Conforme Torrado e colaboradores (2008) e Mistro e colaboradores (2013), os oligômeros de anfotericina B presentes nas formulações convencionais são mais citotóxicos que a forma monomérica do fármaco presente nas formulações lipídicas. Devido à característica anfífilica da anfotericina B, o fármaco forma agregados acima de determinadas concentrações. A solubilidade da molécula em água (pH 6-7) é menor que 1000 µg/mL, sendo que em concentrações iguais ou superiores a 0,2 µg/mL estes agregados já são formados. A concentração micelar crítica da anfotericina B é 3,0 µg/mL, havendo formação de estruturas oligoméricas devido às interações das cadeias carbônicas poli-insaturadas (polieno). A interação fármaco-solvente é que determina a existência de forma monomérica ou aglomerados. Por consequência, em água, a anfotericina B forma uma mistura de monômeros e oligômeros com agregados insolúveis. Do ponto de vista visual, as soluções de AmB são amarelas, quando há predomínio da forma monomérica, apresentando-se como soluções transparentes. À medida que uma dispersão coloidal do fármaco é formada, a mesma varia de translúcida a opaca, o que se torna mais evidente quando as formas insolúveis são formadas em água. A caracterização das formas monoméricas e oligoméricas da anfotericina B pode ser realizada por varredura na região do UV-Vis. Na formulação, a caracterização é mais difícil pois podem coexistir diferentes estados de agregação do ativo, sendo que a formação dos agregados ainda depende do pH da formulação (é menor na faixa de pH entre 7,4 e 12), da presença de excipientes (tensoativos, albumina sérica, co-solventes), da concentração de anfotericina B na formulação, bem como método de preparo da dispersão.

Do ponto de vista biológico, as diferentes formas de agregação da anfotericina B interagem de modo diferente com o esterol das membranas, induzindo alterações nas mesmas. Em baixas concentrações de fármaco, na forma monomérica, a anfotericina B é tóxica para membranas contendo ergosterol das células fúngicas. O extravasamento de potássio decorrente da interação da anfotericina B com células de mamíferos é relatado, quando usadas concentrações maiores do fármaco, quando já são detectadas formações de aglomerados. No Fungizone®, a agregação da anfotericina B é predominante, enquanto em outras formulações, como nos lipossomas, encontra-se basicamente na forma monomérica. Entretanto, se a concentração de fármaco aumentar na bicamada lipídica, poderá haver presença de aglomerados do fármaco (TORRADO et al, 2008).

As formulações do medicamento Abelcet®, complexo lipídico de fosfolípidos e anfotericina B (Fig. 7), apresentam-se como suspensões estéreis e apirogênicas para infusão IV contendo como excipientes os fosfolípidos DMPC e DMPG, cloreto de sódio (agente isotonzante) e água para injetáveis (veículo). A proporção de fármaco: fosfolípidos é 1:1, sendo que o DPMC e DMPG estão presentes em uma razão molar 7:3. A formulação não contém agente bacteriostático e é retirada do frasco contendo 100 mg do fármaco usando agulha estéril. A suspensão apresenta-se amarela e opaca e possui pH entre 5 e 7. Após a retirada do frasco, a agulha deve ser substituída por uma agulha-filtro 5 µg que acompanha o produto para realizar a diluição do medicamento em bolsa de infusão IV contendo solução glicosada a 5% USP. Deve-se garantir a homogeneização do diluído, agitando a bolsa após a diluição. Se o tempo de infusão exceder 2 horas, deve-se homogeneizar novamente o conteúdo da bolsa. A preparação é fotossensível e por isso deve ser mantida ao abrigo da luz, usando bolsa de infusão âmbar ou uma capa protetora para soluções fotossensíveis. Após a diluição da suspensão, pronta administração ao paciente, a preparação permanece estável por até 48 horas a temperaturas de 2°C à 8°C e por um período adicional de 6 horas à temperatura ambiente. (ANVISA, 2017)

**Fig. 7.** Organização estrutural do complexo lipídico da anfotericina B

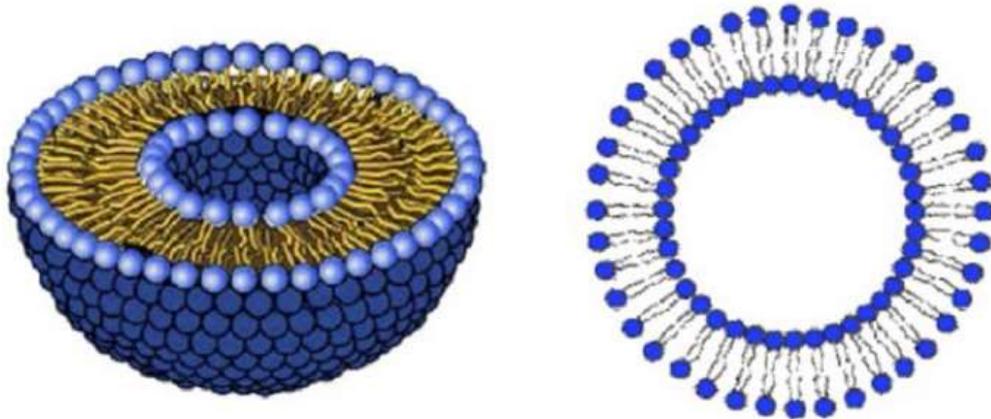


Fonte: Torrado et al (2008).

As formulações de complexo lipídico de fosfolípídeos com anfotericina B foram concebidas somente após o desenvolvimento dos lipossomas, quando se observou que significativa redução dos efeitos adversos poderia estar associada a porções do fármaco que não estavam incorporadas aos lipossomas e, sim, incorporadas a estruturas lipídicas organizadas como arranjos do tipo fitas. Estes arranjos correspondem a camadas bilipídicas com tamanho muito maior às vesículas de lipossomas (cerca 11000 nm). Os pesquisadores observaram que as estruturas lipídicas formadas quando a anfotericina B é misturada aos lipídeos é variável e depende da quantidade do fármaco nesta mistura. Quantidades menores do fármaco levam a formação de vesículas (concentração molar de aproximadamente 5% de anfotericina B). Se as quantidades de anfotericina B aumentam (concentração molar de cerca de 25% de anfotericina B), observa-se a formação das fitas de fosfolípídeos com fármaco complexado. Finalmente, se quantidades muito maiores de fármaco são adicionadas (concentração molar de cerca de 50% de anfotericina B), observa-se a formação das fitas, porém com teor reduzido de fármaco complexado (HIEMENZ; WALSH, 1996; AULTON, TAYLOR, 2016).

O inglês Alec Douglas Bangham, em 1965, reportou pesquisas envolvendo lipossomas (Fig. 8), demonstrando a formação espontânea de vesículas microscópicas quando altas concentrações de fosfolípídeos são dispersas em meio aquoso. As formulações de lipossomas basicamente empregam fosfolípídios, esteróis e um antioxidante. As moléculas de fosfolípídeos, em geral, são biodegradáveis e possuem uma cabeça polar e uma cauda apolar, se auto organizando em bicamadas lipídicas que coalescem formando vesículas. Os lipossomas, diferente das micelas, possuem um núcleo aquoso dentro da bicamada lipídica, podendo encapsular substâncias hidrofílicas (que ficam no compartimento aquoso) e/ou lipofílicas (adsorvidas nas membranas). Durante a evolução do seu emprego como carreadores de fármacos, foram feitas algumas alterações na estrutura básica dos lipossomas para que sua utilização terapêutica fosse ampliada. O controle do tamanho, da carga elétrica e outras características dos lipossomas, bem como a incorporação de fármacos e biomoléculas de diferentes polaridades em sua estrutura é objeto de diversas pesquisas desde então (TORCHILIN, 2005; EDWARDS, BAEUMNER, 2006).

**Fig. 8.** Organização estrutural do lipossoma unilamelar.



Fonte: Azanza, Sádaba e Reis, 2015.

O Ambisome® representou um avanço significativo da aplicação da nanotecnologia na área de medicamentos, permitindo desenvolver lipossomas que se mantiveram estáveis a 37 °C na circulação. Foi introduzido no mercado europeu em 1989 e aprovado pelo FDA nos EUA em 1997 como o primeiro medicamento aprovado para tratar a LV. O Ambisome® apresenta-se como formulação em que a anfotericina B encontra-se incorporada na dupla camada lipídica dos lipossomas unilamelares (Fig. 8), composta por fosfatidilcolina de soja hidrogenada e diastearoil fosfatidilcolina estabilizada com colesterol na razão molar de 2:0,8:1. A carga negativa do fosfolípido do lipossoma interage com grupo catiônico (amina) do fármaco, formando um par iônico na bicamada lipídica, e permitindo assim sua incorporação na estrutura vesicular. Conforme informações do fabricante, cada frasco ampola contém 50 mg de anfotericina B, U.S.P., Ph. Eur. encapsulada em lipossomas cuja constituição é de aproximadamente 213 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 52 mg de colesterol, U.S.N.F., 84 mg de distearoilfosfatidilglicerol, 0,64 mg de alfa tocoferol, U.S.P., Ph. Eur., 900 mg e sacarose, U.S.P., Ph. Eur. e 27 mg de succinato dissódico hexahidratado como tampão. Os componentes se apresentam liofilizados como um pó estéril e devem ser reconstituídos em água imediatamente antes do uso, formando então os lipossomas com diâmetro médio de 80 nm (ADLER-MOORE, 2002; HIEMENZ; WALSH, 1996; TORRADO et al, 2008; AZANZA; SÁDABA; REIS, 2015; AULTON, TAYLOR, 2016).

É importante destacar que os três medicamentos contendo anfotericina B comercializados no Brasil possuem perfis farmacocinéticos bastante distintos, o que por consequência se estende à farmacodinâmica, não podendo ser de forma alguma considerados intercambiáveis. A anfotericina B encapsulada em lipossomas ou incorporada em um complexo lipídico tem as suas propriedades funcionais modificadas, em comparativo às propriedades do fármaco em micelas de desoxicolato de sódio. De modo geral, as formulações lipídicas lipossomais ou complexos lipídicos apresentam maior afinidade pelo sistema reticuloendotelial ou sistema mononuclear fagocitário, sendo fagocitados por monócitos em diferentes velocidades ao alcançarem a circulação sistêmica, reduzindo o acúmulo do fármaco nos rins, e resultando em aumento do índice terapêutico e redução da toxicidade. Outro aspecto importante é a dose letal mediana ( $LD_{50}$ ) após injeção única de anfotericina B incorporada em lipossomas. A  $LD_{50}$  da formulação lipossomal foi maior que 175 mg/kg em camundongos e maior que 50 mg/kg em ratos, valores 30 a 60 vezes maiores do que as formulações convencionais baseadas em desoxicolato de sódio (HIEMENZ; WALSH, 1996). É importante destacar que a tendência dos lipossomas e complexos lipídicos a serem capturados pelo sistema fagocitário mononuclear é uma vantagem no caso do tratamento de doenças infecciosas e parasitárias, principalmente nos casos de LV que os parasitas se encontram dentro dos macrófagos, resultando na vetorização do fármaco a partir do sistema de liberação (LABANA et al, 2002). A captura dos lipossomas e complexos lipídicos ocorre no fígado, pulmões, linfonodos, baço, e, em menor extensão, na medula óssea, onde observa-se um acúmulo seletivo do fármaco. A captura também é realizada por macrófagos teciduais nos quais se localizam os parasitas causadores da LV (FRÉZARD et al, 2005).

As formulações administradas por infusão IV de complexo lipídico são fagocitadas rapidamente, e as concentrações plasmática são menores em comparativos com as formulações convencionais baseadas em desoxicolato de sódio. A formulação de complexo lipídico implica em maiores concentrações do fármaco nos pulmões, baço, fígado, reduzindo as concentrações acumuladas no coração, rins, cérebro e linfonodos. Pode-se afirmar que os complexos lipídicos diminuem o efeito renal, porém não tanto quanto a formulação lipossomal. No caso da formulação lipossomal, o fármaco concentra-se predominantemente no fígado e baço, sendo fagocitado mais lentamente pelo sistema fagocitário mononuclear a partir da

circulação. Isto pode estar associado ao tamanho das estruturas lipídicas, sendo que as vesículas de lipossoma que são muito menores que tamanho das fitas de fosfolípidios dos complexos lipídicos. A carga negativa dos lipossomas do Ambisome<sup>®</sup>, devido ao fosfolípido fosfatidilcolina de soja hidrogenada, também podem contribuir para prolongar circulação, sendo que por isso, o pico plasmático da formulação lipossomal maior e o tempo de circulação do fármaco também maior do que nas demais formulações (TORRADO et al, 2008; AZANZA; SÁDABA; REIS, 2015).

A nefrotoxicidade reduzida da formulação lipossomal da anfotericina B ainda não está claramente elucidada, porém é evidentemente menor do que as formulações convencionais contendo o desoxicolato de sódio. A toxicidade reduzida pode ser relacionada a diferentes mecanismos, sendo um deles a maior afinidade das vesículas dos lipossomas pelas lipoproteínas de alta densidade (HDL). A ligação com as lipoproteínas promove a sua captação pelo sistema reticuloendotelial, que possui elevada expressão de receptores HDL, diferentemente do tecido renal que possui expressão aumentada de receptores para lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Sendo assim, a captação dos lipossomas será preferencialmente feita pelos macrófagos hepáticos e esplênicos, contribuindo para a redução da nefrotoxicidade em comparação com o fármaco em formulações convencionais (AZANZA; SÁDABA; REIS, 2015). Outro fator já discutido, é a forma em que a anfotericina B predominantemente se encontra na formulação, que pode ser monomérica (nos lipossomas e complexo lipídico) ou oligomérica (nas micelas de desoxicolato).

A Tabela 1 apresenta um comparativo entre parâmetros farmacocinéticos e características das diferentes formulações lipídicas de anfotericina B.

**Tabela 1.** Farmacocinética das formulações lipídicas de anfotericina B.

Nome comercial	Organização da formulação	Tamanho (nm)	Lipídeos	C <sub>máx</sub> (µg/mL/dose administrada)
Fungizone	Micelas	ND	Desoxicolato de sódio	0,98 (0,25 mg/kg)
			fosfatidilcolina de soja	2,9 (0,68 mg/kg)
			hidrogenada,	7,3 (1,0 mg/kg)
Ambisome	Lipossomas	80	diastearoil	17,2 (2,5 mg/kg)
			fosfatidilcolina e	57,6 (5,0 mg/kg)
			colesterol	
	Complexo			0,84 (0,5 mg/kg)
Amphocil	lipídico com	120-140	Colesteril sulfato	2,19 (1,0 mg/kg)
	colesteril sulfato			2,53 (1,5 mg/kg)
	Dupla fita		Dimiristil fosfatidilcolina	0,27 (0,5 mg/kg)
Ambelcet	(complexo	1600-11000	e dimiristil	1,1 (2,5 mg/kg)
	lipídico)		fosfatidilglicerol	

ND, não disponível; C<sub>máx</sub>, concentração plasmática máxima após administração de dose do fármaco expressa em miligrama por quilograma.

Fonte: Hiemenz; Walsh (1996).

Apesar da anfotericina B lipossomal apresentar melhor resposta e menor toxicidade, ressalta-se que este não é o primeiro medicamento de escolha no Brasil, exceto nos casos descritos no quadro 6, o que se deve principalmente ao elevado custo. As contraindicações dos antimoniais e da anfotericina B desoxicolato também estão apresentadas no quadro 7.

**Quadro 7.** Indicações do uso de anfotericina B lipossomal.

Indicações	Nível de evidencia
Idade menor que 1 ano	D
Idade maior que 50 anos	D
Escore de gravidez: clínico >4 ou clínico0laboratorial >6	D
Insuficiência renal	A
Insuficiência hepática	D
Transplantado cardíaco, renal e hepático	D
Intervalo QT corrigido maior que 150ms	D
Uso concomitante de medicamentos que alteram o intervalo QT	D
Hipersensibilidade ao antimonial pentavalente ou a outros medicamentos utilizados para o tratamento da LV	D
Infecção pelo HIV	D
Comorbidades que comprometem a imunidade	D
Uso de medicação imunossupressora	D
Falha terapêutica ao antimonial pentavalente ou a outros medicamentos utilizados para o tratamento da LV	D
Gestantes	D

Fonte: Ministério da Saúde, 2015

**Quadro 8.** Contraindicações para o uso de antimoniatos e anfotericina B.

Antimoniato de meglumina	
<b>Contraindicação</b>	Insuficiência renal; insuficiência hepática; insuficiência cardíaca; uso concomitante de medicamentos que alteram o intervalo QTc(>450ms); gravidez; hipersensibilidade aos componentes da formulação
Anfotericina B desoxicolato	
<b>Contraindicação</b>	Hipersensibilidade aos componentes da formulação; insuficiência renal
Anfotericina B lipossomal	
<b>Contraindicação</b>	Hipersensibilidade aos componentes da formulação

Fonte: Ministério da Saúde, 2015

Neste ponto, pode-se afirmar que a LV, conforme mencionado anteriormente, é uma doença negligenciada sem haver disponibilidade de formulações intercambiáveis (genéricas ou similares) para nenhum dos quatro medicamentos disponíveis para seu tratamento. Duas formulações de anfotericina B constam como disponíveis no SUS (Unianf<sup>®</sup> e Anforcin B<sup>®</sup>), porém, conforme consta na página da Anvisa, a formulação Unianf<sup>®</sup> encontra-se com registro com *status* caduco/cancelado. (Anvisa, 2019)

#### 4.4 ASPECTOS ECONÔMICOS DOS MEDICAMENTOS DISPONÍVEIS

A tabela 2 apresenta a variação de preços em 2019 para as 4 formulações usadas no tratamento da LV, ressaltando-se o alto custo das formulações lipídicas de anfotericina B do tipo complexo lipídico e lipossomal.

**Tabela 2.** Aspectos farmacoeconômicos.

Medicamento	Apresentação	Preço máximo (PF) (CMED ICMS 20%)	Disponibilidade no SUS
<b>Antimoniato (glucantime)</b>	300 MG/ML SOL INJ CX 50 AMP VD INC X 5 ML	R\$363,39	sim
<b>Anfotericina B desoxicolato (Unianf)</b>	300 MG/ML SOL INJ CX 50 AMP VD INC X 5 ML	R\$647,48	sim
<b>Anfotericina B lipossomal (Ambisome)</b>	50 MG PÓ LIOF INJ CT 10 FA VD INC	R\$19.163,33	sim
<b>Anfotericina B complexo lipídico (Abelcet)</b>	5 MG/ML SUSP IV CT FA VD TRANSX 20 ML + AGU	R\$2.938,37	sim

Fonte: Anvisa, 2019

É importante ressaltar também que, além dos custos dos medicamentos, deve-se colocar em questão o custo do tratamento de forma global, principalmente aqueles realizados em âmbito hospitalar por tempo prolongado, gerando custos adicionais com exames, procedimentos e outros cuidados que possam vir a ser necessários. A anfotericina B lipossomal é o medicamento de primeira escolha somente para o tratamento de pacientes graves com leishmanioses. Em junho de 2018, devido ao risco de desabastecimento, foi publicada a nota informativa nº 142/2018-CGDT/DEVIT/SVS/MS que trata do uso racional do medicamento anfotericina B lipossomal para o tratamento de pacientes com leishmanioses. A nota recomenda que a medicação seja liberada para pacientes que apresentem sinais e sintomas característicos da doença e que tenham a confirmação da doença por pelo menos um dos exames laboratoriais específicos disponíveis. Além disso, a nota informa que as formulações do tipo lipossomal e o desoxicolato são dispensados pelo Programa das Leishmanioses enquanto a formulação do tipo complexo lipídico é liberada pelo Programa de Micoses Sistêmicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

#### 4.5 CRITÉRIOS DE CURA E TRATAMENTO DE SUPORTE

Segundo o Ministério da Saúde (2014), os primeiros sinais de resposta do organismo costumam ser inespecíficos, tais como: melhora do apetite e do estado geral do paciente. O desaparecimento da febre pode ocorrer entre o segundo e quinto dia de tratamento. Nas primeiras semanas é possível notar a redução do tamanho do fígado e baço, mas a regressão total dos sintomas pode levar alguns meses. A partir da evolução clínica favorável, o controle parasitológico é dispensável.

Após o tratamento, o paciente deverá ser acompanhado por no mínimo seis meses e, caso permaneça estável, ele será considerado clinicamente curado (NYAKUNDI et al, 1994). A recidiva ocorre quando houver recrudescimento da sintomatologia em até 12 meses após o término do tratamento.

Segundo Andrade (1990), pacientes com LV são caracteristicamente neutropênicos e apresentam maior risco de apresentar infecções aparentes ou ocultas. As infecções bacterianas no paciente com LV podem ser graves e a apresentação clínica inespecífica (ANDRADE, 1990; KADIVAR et al, 2000). Em casos em que há suspeita de infecções bacterianas, a terapia antibiótica empírica deve ser rapidamente iniciada após estabelecidos diagnósticos adequados.

O suporte hemoterápico é considerado uma importante medida no tratamento da LV e deve ser feito de forma individualizada, considerando a idade do paciente, a compensação hemodinâmica necessária e a presença de complicações hemoterápicas. Apesar das escassas publicações científicas sobre o uso de hemoderivados e seus efeitos adversos, as indicações desse suporte hemoterápico é baseada em outras situações clínicas como plaquetopenia e anemia relacionadas à quimioterapia, doenças neoplásicas ou mielodisplasias (MURPHY et al, 1992; ALONSO et al, 1997).

O suporte nutricional para o paciente com LV é imprescindível e deverá ser iniciado o mais precocemente possível, evitando os efeitos do hipercatabolismo. A nutrição enteral é preferível de forma a evitar a atrofia intestinal e a translocação bacteriana.

## 5 CONCLUSÕES

Atualmente, as estratégias terapêuticas para a LV no Brasil são limitadas aos quatro medicamentos: Antimoniato de N-metilglucamina, somente em formulação de pó líofilo para injeção por via IV ou IM (Glucantime®), e anfotericina B, em três apresentações para uso endovenoso, que são desoxicolato (Anforicin®), complexo lipídico (Abelcet®) e lipossomal (Ambisome®). O antimoniato pentavalente, apesar de apresentar efeitos adversos, é o medicamento de primeira escolha, sendo o mais utilizado na prática clínica em regiões endêmicas como o Brasil, devido ao seu baixo custo e possibilidade de aplicação por via IM fora do âmbito hospitalar. A anfotericina B é um antifúngico que se mostrou indispensável, porém a segurança é questionável, visto que pode apresentar efeitos adversos graves. Por isso, é o medicamento de segunda escolha, para os casos de LV não responsivos a terapia com antimoniato pentavalente. Entre as apresentações de anfotericina B, a formulação desoxicolato é a que apresenta maior toxicidade, sendo exacerbada em pacientes com histórico de problemas renais. As formulações do tipo complexo lipídico e lipossomal apresentam uma incidência menor de efeitos adversos, reduzindo a nefrotoxicidade do fármaco devido à sua vetorização para outros sítios. Apesar das vantagens destas apresentações, possuem alto custo de aquisição, que é expressivamente maior do que as formulações de antimoniato de N-metilglucamina e anfotericina B desoxicolato. É sabido que os custos hospitalares totais, incluindo os exames laboratoriais, ajustados ao contexto local, também são levados em conta na seleção do tratamento mais indicado ao paciente, porém mesmo assim observa-se que o custo das formulações lipídicas de anfotericina B do tipo complexo lipídico e lipossomal é muito alto, o que torna o acesso a estes medicamentos demasiadamente limitado. Sendo assim, ao longo deste estudo constatou-se o limitado número de estratégias terapêuticas para tratamento da LV disponíveis no Brasil, salientando-se tratar de uma doença ainda muito negligenciada. Não menos importante, observa-se que as formulações de anfotericina B com alta eficácia e maior segurança não foram primariamente concebidas para tratar a LV, e ainda assim, mesmo após décadas de sua introdução no mercado, ainda apresentam custo elevado sem opção de medicamentos intercambiáveis (genéricos ou similares) com custo mais acessível.

## REFERÊNCIAS

ADLER-MOORE, J.; PROFFITT, R. T. Ambisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 49, Suppl. 1, p. 21-30, 2002.

ALONSO, M. J.; MUÑOZ, E.; PICAZO, A.; ABAD, M. M.; GÓMEZ, F.; ROLDÁN, M.; LAGUNA, F.; PAZ, J. I.; LÓPEZ-BRAVO, A. Duodenal leishmaniasis diagnosed by biopsy in two HIV positive patients. **Pathol. Res. Pract.**, v. 193, n. 1, p. 43-50, 1997.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M. DEN. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PloS One**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.

ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 57, p. 1–88, 2004.

ALVARENGA, D. G.; ESCALDA, P. M. F.; COSTA, A. S. V.; MONREAL, M. T. F. D. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 43, n. 2, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, volume 2. 5ª Ed. Ministério da Saúde, Brasília, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, volume 2. 5ª Ed. Ministério da Saúde, Brasília, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, volume 2. 5ª Ed. Ministério da Saúde, Brasília, 2019.

AZANZA, J. R.; SÁDADA, B.; REIS, J. Liposomal formulations of amphotericin B: differences according to the scientific evidence, **Rev. Esp. Quimioter.**, v. 28, n. 6, p. 275-81, 2015.

ANDRADE, C. E.; ROCHA, H. Bacterial infections in patients with visceral leishmaniasis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, n. 6, p. 1354-1359, 1990.

ARAÚJO, V. E. M. de; MORAIS, M. H. F.; REIS, I. A.; RABELLO, A.; CARNEIRO, M. Early clinical manifestations associated with death from visceral leishmaniasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 2, p. e15111, 2012.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4 ed. São Paulo: Elsevier, 2016. 872 p

BACELLAR, O.; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese da Leishmaniose Visceral. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 75, v. 1, p. 24-34, 2005.

BADARÓ, R.; JONES, T. C.; LORENÇO, R.; CERF, B. J.; SAMPAIO, D.; CARVALHO, E. M.; ROCHA, H.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON, W. D. JR. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 154, n. 4, p. 639-49, 1986a.

BADARÓ, R.; JONES, T. C.; CARVALHO, E. M.; SAMPAIO, D.; REED, S. G.; BARRAL, A.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON, W. D. Jr. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 154, n. 6, p. 1003-11, 1986b.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). DPDx - Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern, Leishmaniasis, 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em 15 de maio de 2019.

DEANE, L. M., DEANE, M. P. Observações preliminares da importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios de *Leishmania donovani*, em área endêmica do calazar, no Ceará. **O Hospital**, 1955; 48:79-98

D'OLIVEIRA JÚNIOR, A.; COSTA, S. R.; BARBOSA, A. B.; ORGE, M. de la G.; CARVALHO, E. M. Asymptomatic *Leishmania chagasi* infection in relatives and neighbors of patients with visceral leishmaniasis. **Mem. Inst Oswaldo Cruz.**, v. 92, n. 1, p. 15-20, 1997.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 27, p. 305-18, 2004.

EDWARDS, K. A.; BAEUMNER, A. J. Liposomes in analyses. **Talanta, London**, v. 68, n.5, p.1432-1441, 2006.

FRÉZARD, F.; SCHETTINI, D. A.; ROCHA, O. G. F.; DEMICHELI, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 28, p. 511- 518, 2005.

HAMILL, R. J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. **Drugs**, 73, p.919-34, 2013.

HANDMAN, E. Leishmaniasis: Current status of vaccine development. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 229-243, 2001.

HIEMENZ, J.W.; WALSH, T.J. Lipid formulations of amphotericin B: recent progress and future directions, **Clin. Infect. Dis.** v. 22, Suppl. 2, p. S133-44, 1996.

KADIVAR, M. R.; KAJBAF, T. Z.; KARIMI, A.; ALBORZI, A. Childhood visceral leishmaniasis complicated by bacterial infections. **East Mediterr. Health J.**, v. 6, p. 879-883, 2000.

KAYE, P., SCOTT, P. Leishmaniasis: Complexity at the host-pathogen interface. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 9, n. 8, p. 604-15, 2011.

LABANA, S.; PANDEY, R.; SHARMA, S.; KHULLER, G.K. Chemotherapeutic activity against murine tuberculosis of once weekly administered drugs (isoniazid and rifampicin) encapsulated in liposomes. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 20, p.301-304, 2002.

LAINSON, R.; SHAW, J. J., WARD, R. D.; READY, P. D.; NAIFF, R. D. Leishmaniasis in Brazil: XIII. Isolation of *Leishmania* from armadillos (*Dasypus novencinctus*) and observations on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in North Para State. **Trans. Roy. Soc. Trop.**, v. 73, 239- 242, 1978.

LAISON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. *In*: Peters W, Killick-Dendrick R (eds), *The leishmaniasis in biology and medicine, Biology and Epidemiology*, Academy Press, London p. 1-20, 1987.

LEITE, A. I.; ARAÚJO, L. B. Visceral leishmaniasis: Epidemiological aspects related to deaths in Mossoro, state of Rio Grande do Norte, Brazil, **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 3, p. 301-8, 2013.

MESA-ARANGO, A. C.; SCORZONI, L.; ZARAGOZA, O. It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug. **Front. Microbiol.**, v. 3, n. 286, p. 1- 10, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, Brasil, 122p, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, Brasil, 150p, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 1. ed., 5. reimpr., Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, Brasil, 130p, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota informativa nº 142/2018-CGDT/DEVIT/SVS/MS. Uso racional do medicamento anfotericina B lipossomal para o tratamento de pacientes com leishmanioses, Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis (CGDT), Brasília, Brasil, 2p, 2018.

MISTRO, S.; MACIEL, I. de M.; MENEZES, R. G. de; MAIA, Z. P.; SCHOOLEY, R. T.; BADARÓ, R. Does lipid emulsion reduce amphotericin B nephrotoxicity? A systematic review and meta-analysis, **Clin. Infect. Dis.**, v. 54, p. 1774-7, 2012.

MOFFAT, A.C.; OSSELTON, M.D.; WIDDOP, B. **Clarke's analysis of drug and poisons:** in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4 ed. London: Pharmaceutical Press, 2011. 2609 p.

MORA-DUARTE, J.; BETTS, R.; ROTSTEIN, C.; COLOMBO, A.L.; THOMPSON-MOYA, L.; SMIETANA, J.; LUPINACCI, R.; SABLE, C.; KARTSONIS, N.; PERFECT, J. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. **NEJ M**, v. 347, n. 25, p 2020-2029, 2002.

MURPHY, M. F.; BROZOVIC, B.; MURPHY, W.; OUWEHAND, W.; WATERS, A. H. Guidelines for platelet transfusions. British Committee for Standards in Haematology. Working Party of the Blood Transfusion Task Force. **Transfus. Med.**, v. 2, n. 4, p. 311-318, Dec. 1992.

NIETO, A.; DOMÍNGUEZ-BERNAL, G.; ORDEN, J. A.; FUENTE, R. de la; MADRID-ELENA, N.; CARRIÓN, J. Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniosis: BALB/c mouse versus Syrian hamster model. **Vet. Res.**, v. 42, p. 39, 2011.

NUCCI, M.; LOUREIRO, M.; SILVEIRA, F.; CASALL, A. R.; BOUZAS, L. F.; VELASCO, E.; SPECTOR, N.; PULCHERI, W. Comparison of the toxicity of amphotericin B in 5% dextrose with that of amphotericin B in fat emulsion in a randomized trial with cancer patients. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 43, p. 1445-1448, 1999.

NUNES, C. M.; PIRES, M. M.; SILVA, K. M. da; ASSIS, F. D.; GONÇALVES FILHO, J.; PERRI, S. H. V. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 1–2, p. 131-3, 2010.

NYAKUNDI, P. M.; GACHIHI, G. S.; MUIGAI, R. K.; WERE, J. B.; WASUNNA, K. M.; RASHID, R. J.; OGOLA, J. J.; KIRIGI, G.; MBUGUA, J. Relationship between direct agglutination test and splenic aspirate smear parasite load in visceral leishmaniasis at Baringo District, Kenya. **East. Afr. Med. J.**, v. 71, n. 9, p. 598-600, 1994

PELLISSARI, D. M.; CECHINEL, M. P.; SOUSA-GOMES, M. L.; LIMA JÚNIOR, F. E. F. Tratamento da leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **Epidemiol. Serv. Saúde.**, v. 20, n. 1, p. 107-10, 2011.

PRACTICE guidelines for blood component therapy: a report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. **Anesthesiology**, v. 84, n. 3, p. 732-747, 1996.

PROFFITT, R. T.; SATORIUS, A.; CHIANG, S. M.; SULLIVAN, L.; ADLER-MOORE, J. P. Pharmacology and toxicology of a liposomal formulation of amphotericin B (Ambisome) in rodents. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 28, Suppl B, p. 49-61, 1991.

PUISIEUX, F. COUVREUR, P., DELATTRE, J., DEVISAGUET, J. P. (Eds.). **Liposomes, new systems and new trends in their applications**. Paris: Éditions de Santé, 1995. p.266.

QUINNELL, R. J.; CARSON, C.; REITHINGER, R.; GARCEZ, L. M.; COURTENAY, O. Evaluation of rK39 rapid diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis: longitudinal study and meta-analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 1, p. e1992, 2013.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESÚS, M. N. de; MARZAL, P. C.; ANDRADE JR., H. F. DE; TEMPONE, A. G. Antimoniais

empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Quím. Nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.

SILVA, E. S.; GONTIJO, C. M. F.; PACHECO, R. S.; FIUZA, V. O. P.; BRAZIL, R. P. Visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 3, p. 285-91, 2001.

SILVA, A. R. da; TAUIL, P. L.; CAVALCANTE, M. N. S.; MEDEIROS, M. N.; PIRES, B. N.; GONÇALVES, E. da G. Epidemiological situation of visceral leishmaniasis on the Island of São Luis, State of Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 358–64, 2008.

SOUZA, Y. C. P.; CARVALHO, A. F. S.; CARVALHO, L. A. R., MANSUR, V. F. R. Testes diagnósticos para leishmaniose visceral – Atualidade e perspectivas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 21, 2013.

SUNDAR, S. Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis, **Trop. Med. Int. Health.**, v. 6, n. 11, p. 849-54, 2001.

SCHÖFFSKI, P.; FREUND, M.; WUNDER, R.; PETERSEN, D.; KÖHNE, C.H.; HECKER, H.; SCHUBERT, U.; GANSER, A. Safety and toxicity of amphotericin B in glucose 5% or intralipid 20% in neutropenic patients with pneumonia or fever of unknown origin: randomized study. **BMJ**, v. 317, p. 379-384. 1998

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carrier. **Nature Rev. Drug Disc.**, London, v. 4, p. 145-160, 2005

TORRADO, J. J.; ESPADA, R.; BALLESTEROS, M. P.; TORRADO-SANTIAGO, S. Amphotericin B formulations and drug targeting. **J. Pharm. Sci.**, v. 97, n. 7, p. 2405-25, 2008.

VARLAM, D. E.; SIDDIQ, M. M.; PARTON, L. A.; RÜSSMANN, H. Apoptosis contributes to amphotericin B- induced nephrotoxicity. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 45, n. 3, p. 679-685, 2001.

WHO. World Health Organization. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. In WHO. Geneva, p. 184, 2010.

WALSH, T. J.; GOODMAN, J. L.; PAPPAS, P.; BEKERSKY, I.; BUELL, D. N.; RODEN, M.; BARRETT, J.; ANAISSIE, E. J. Safety, tolerance, and pharmacokinetics of highdose liposomal amphotericin B (Ambisome) in patients infected with *Aspergillus* species and other filamentous fungi: maximum tolerated dose study. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 45, n. 12, p. 3487- 96, 2001.

WERNECK, G. L. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2937-2940, 2008.

WHO. Integrating neglected tropical diseases into global health and development: fourth WHO report on neglected tropical diseases; 2017.