

# Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*\*

A randomized clinical trial comparing meglumine antimoniate, pentamidine and amphotericin B for the treatment of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania guyanensis*

Leandro Ourives Neves<sup>1</sup>

Ellen Priscilla Nunes Gadelha<sup>3</sup>

Jorge Augusto de Oliveira Guerra<sup>5</sup>

Sinésio Talhari<sup>7</sup>

Anette Chrusciak Talhari<sup>2</sup>

Roberto Moreira da Silva Júnior<sup>4</sup>

Luiz Carlos de Lima Ferreira<sup>6</sup>

**Resumo:** FUNDAMENTOS: O tratamento da leishmaniose tegumentar americana (LTA) ainda constitui desafio, pois a maioria dos medicamentos é injetável e têm-se poucos ensaios clínicos randomizados comparando a eficácia das drogas. Além disso, é provável que as espécies de *Leishmania* tenham influência nas respostas terapêuticas.

OBJETIVOS: Avaliar e comparar a eficácia e a segurança dos esquemas de tratamento na LTA, ocasionada por *Leishmania (Viannia) guyanensis*.

MÉTODOS: 185 pacientes foram selecionados, conforme critérios de elegibilidade, e distribuídos, aleatoriamente, em 3 grupos – 2 com 74 enfermos e outro com 37 - que receberam, respectivamente, antimoniato de meglumina, isotionato de pentamidina e anfotericina B em doses, períodos e vias de administração padronizados. Os enfermos foram reexaminados um, dois e seis meses após o final dos tratamentos.

RESULTADOS: Não houve diferença entre os grupos terapêuticos em relação ao sexo, idade, número ou local das lesões. A análise por intenção de tratar (ITT) mostrou eficácias de 58,1% para a pentamidina e 55,5% para o antimoniato ( $p=0,857$ ). O grupo da anfotericina B foi analisado separadamente, pois 28 (75,7%) pacientes negaram-se a continuar no estudo após a randomização. Eventos adversos leves ou moderados foram relatados por 74 (40%) pacientes, principalmente artralgia (20,3%), para o grupo do antimoniato, e dor (35,1%) ou endureção (10,8%) no local das injeções para a pentamidina.

CONCLUSÕES: A pentamidina tem eficácia similar ao antimoniato pentavalente para o tratamento da LTA ocasionada por *L. guyanensis*. Face aos baixos resultados de eficácia apresentados por ambas as drogas, necessita-se, com urgência, investigar novas opções terapêuticas para esta enfermidade. Palavras-chave: Anfotericina B; Leishmaniose cutânea; Meglumina; Pentamidina; Terapêutica

**Abstract:** Fundamentals: American tegumentary leishmaniasis (ATL) treatment remains a challenge, since most available drugs are injectable and only a small number of comparative, randomized clinical trials have been performed to support their use. Moreover, treatment outcome may depend on the causative species of *Leishmania*.

OBJECTIVES: To evaluate and compare the efficacy and tolerability of meglumine antimoniate, pentamidine isethionate, and amphotericin B in the treatment of ATL caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis*.

METHODS: 185 patients were selected according to the eligibility criteria and randomly allocated into three groups - two groups with 74 patients each, and one group with 37 patients, which underwent meglumine, pentamidine and amphotericin B treatment, respectively. Doses, mode of administration and time periods of treatment followed the current recommendations for each drug. Patients were re-examined one, two and six months after completion of treatment.

RESULTS: No differences were observed among the therapeutic groups in relation to gender, age, number or site of lesions. Intention-to-treat (ITT) analysis showed efficacy of 58.1% for pentamidine and 55.5% for meglumine ( $p=0.857$ ). The amphotericin B group was analyzed separately, since 28 patients (75.7%) in this group refused to continue participating in the study. Mild or moderate adverse effects were reported by 74 (40%) patients, especially arthralgia (20.3%) in the meglumine group, and pain (35.1%) or induration (10.8%) at the site of injection in the pentamidine group.

CONCLUSION: Pentamidine and meglumine show similar efficacy in the treatment of ATL caused by *L. guyanensis*. Given the low efficacy of both drugs, there is an urgent need for new therapeutical approaches.

Keywords: Amphotericin B; Leishmaniasis, Cutaneous; Meglumine; Pentamidine; Therapeutics

Recebido em 11.10.2010.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 03.12.10.

\* Trabalho realizado no Ambulatório de Dermatologia da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM) – Manaus (AM), Brasil.

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest: None*

Suporte financeiro / *Financial funding*: Suporte Financeiro: Financiadora de Estudos e Projetos do Ministério da Ciência e Tecnologia – FINEP

<sup>1</sup> Mestre e doutorando em Doenças Tropicais e Infecciosas - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado/ Universidade do Estado do Amazonas (FMTHVD – UEA) – Professor-auxiliar de Clínica Dermatológica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) – Manaus(AM), Brasil.

<sup>2</sup> Doutora em Medicina Tropical - Dermatologista da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) – Manaus(AM), Brasil.

<sup>3</sup> Mestranda em Doenças Tropicais e Infecciosas - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado/ Universidade do Estado do Amazonas (FMTHVD – UEA) - Enfermeira da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) – Manaus(AM), Brasil.

<sup>4</sup> Doutorando em Doenças Tropicais e Infecciosas - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado/ Universidade do Estado do Amazonas (FMTHVD – UEA) - Biólogo da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) – Manaus(AM), Brasil.

<sup>5</sup> Doutor em Medicina Tropical - Infectologista da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) – Manaus(AM), Brasil.

<sup>6</sup> Doutor em Patologia - Patologista da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) - Manaus(AM), Brasil.

<sup>7</sup> Doutor em Dermatologia – Professor de Dermatologia da Universidade Nilton Lins - Manaus(AM), Brasil.

## INTRODUÇÃO

As leishmanioses compreendem grupo de doenças infecciosas crônicas, causadas por diversas espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Ocorrem em regiões tropicais e subtropicais do Velho e Novo Mundo, podendo atingir as vísceras (leishmaniose visceral), a pele e/ou mucosas. Estima-se que, anualmente, 1,5 - 2 milhões de indivíduos sejam acometidos, e que 1 - 1,5 milhão de casos correspondam à forma tegumentar da doença.<sup>1</sup>

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) constitui importante causa de morbidade nas Américas, sendo observada desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (exceto Chile e Uruguai). Nos últimos 20 anos, foram registrados 549.309 casos de LTA no Brasil. O coeficiente médio de detecção da doença no país é de 16,2 casos/100.000 habitantes; mas, na região Norte, é de 76,8 casos/100.000 habitantes.<sup>2</sup> A LTA é uma zoonose primária de mamíferos silvestres (marsupiais, roedores, edentados e primatas, entre outros) e, secundariamente, de animais domésticos. A transmissão pode ocorrer no ambiente silvestre, relacionada à exploração desordenada da floresta e derrubada das matas, por motivo ocupacional ou lazer; no ambiente rural e periurbano, está relacionada ao processo migratório, ocupação de encostas e aglomerados, associada às matas secundárias ou residuais.<sup>3</sup>

As espécies mais importantes no Brasil são a *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis*. No estado do Amazonas, predomina a forma cutânea, principalmente na região de Manaus, havendo raros casos de acometimento mucoso. No município de Manaus, onde ocorre mais da metade dos casos de LTA daquele estado, a espécie predominante é *L. (V.) guyanensis*.<sup>4,5</sup>

O período de incubação da doença no homem é, em média, de 60 dias, variando de 2 semanas a 24 meses.<sup>3</sup>

A leishmaniose cutânea (LC) pode evoluir para a cura espontânea ou progredir para a formação de pápulas, nódulos, placas e, principalmente, úlceras. Podem ocorrer, também, invasão de linfonodos regionais e progressão para lesões mucosas (LCM). O que determinará a evolução da infecção e as diferentes formas de apresentação clínica da LTA será, basicamente, o tipo de resposta imunitária que o indivíduo irá desenvolver - Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub>. Esta resposta inflamatória, por outro lado, dependerá de aspectos ainda não totalmente conhecidos, tais como fatores genéticos do hospedeiro (existência de genes promotores do Fator de Necrose Tumoral, resposta efetiva de células NK frente à IL-12 e produção adequada de interferon gama, dentre outras) e a espécie de *Leishmania* responsável pela infecção.<sup>3,6</sup>

O aspecto das úlceras é semelhante, independentemente das espécies de *Leishmania*. Aparentemente, a infecção por *L. (V.) guyanensis* induziria à resposta imunológica celular e humoral menos intensa do que a *L. (V.) braziliensis*, o que poderia explicar alguns aspectos peculiares na apresentação clínica, como maior número de parasitas nas lesões e maior resistência terapêutica aos antimoniais.<sup>7</sup> Parece haver maior frequência de linfonodos adjacentes às lesões, necessidade de maior tempo de tratamento e menor tendência para metástase nasal.<sup>8,9</sup> A presença de pápulas satélites indicaria risco aumentado de falha terapêutica.<sup>10</sup>

Para o diagnóstico parasitológico da LC faz-se o exame direto ou cultura, utilizando-se material coletado para biópsia ou aspirado das úlceras. A identificação microscópica dos esfregaços requer técnicos experientes para o diagnóstico. A cultura pode demorar e haver contaminação, dificultando o diagnóstico. Dentre os métodos indiretos, a intradermoreação de Montenegro (IDRM) tem a limitação de tornar-se positiva entre 3 e 6 semanas após o início da doença, com sensibilidade variável em áreas endêmicas, não havendo padronização dos antígenos utilizados na sua produção. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) e testes sorológicos têm sido utilizados como opções diagnósticas.<sup>3,5</sup>

A droga de primeira escolha para o tratamento da LTA é o antimoniato de N-metilglucamina (NMG). Como opções terapêuticas de segunda linha, são disponibilizados nos serviços de saúde o isotionato de pentamidina e a anfotericina B.<sup>3</sup>

Os índices de cura com os antimoniais, na LTA, são difíceis de ser avaliados, face à falta de estudos controlados e das diferentes posologias empregadas.<sup>5</sup>

É provável que as espécies de *Leishmania* tenham influência na resposta terapêutica aos antimoniais.<sup>11,12</sup> De acordo com alguns estudos, no tratamento da LC por *L. (V.) guyanensis*, a pentamidina seria a droga de primeira linha no estado do Amazonas.<sup>8,13</sup>

Em relação aos custos dos tratamentos para a LTA, e considerando-se exclusivamente as despesas com as drogas, a pentamidina custa quase 2 vezes mais do que o antimonial. Entretanto, o tratamento parenteral prolongado com o antimonial gera despesas indiretas, relacionadas a insumos hospitalares, eventuais necessidades de afastamento do trabalho ou internação. No Brasil, o gasto anual apenas com o antimonial pentavalente é de R\$ 5.490.000.<sup>3</sup> Assim, a pentamidina constituiria importante opção terapêutica para a LTA cutânea, face ao seu custo/benefício, além de ser segura para o tratamento de cardiopatas.<sup>8,14</sup>

Outros principais fármacos já utilizados para o tratamento da LTA são miltefosina, azitromicina, itra-

conazol, cetoconazol, alopurinol, paramomicina e pentoxifilina.<sup>5,15</sup>

Os efeitos colaterais dos antimoniais são bem conhecidos: toxicidades cardíaca, hepática, pancreática, renal e do sistema músculo-esquelético. A cardiotoxicidade traduz-se, principalmente, por distúrbios da repolarização ventricular, que incluem alterações da onda T (achatamento ou inversão) e aumento do intervalo QT. Essas alterações são dose e tempo dependentes. Os antimoniais estão contraindicados em pacientes que fazem uso de beta-bloqueadores (principalmente sotalol e propranolol) ou antiarrítmicos, como a amiodarona e quinidina. Os efeitos colaterais relacionados ao aparelho gastrointestinal são frequentes e incluem náuseas, anorexia e dor abdominal. A hepatotoxicidade também é frequente e pode ocorrer em até 50% dos pacientes tratados.<sup>16</sup>

Os antimoniais são eliminados, principalmente, por via renal, onde 80% da droga é excretada nas primeiras 6 horas, após administração parenteral. Após 16 horas, os níveis plasmáticos do medicamento caem a 1% dos valores da concentração plasmática máxima e qualquer diminuição do *clearance* renal potencializa os efeitos tóxicos dos antimoniais. A insuficiência renal secundária ao uso de antimoniais, nas doses habituais, é um evento raro. O principal efeito nefrotóxico dos antimoniais é a diminuição na capacidade de concentração urinária. Este efeito adverso, reversível após o tratamento, é secundário à competição da droga com o hormônio antidiurético nos tubos coletores renais. Face à excreção renal dos antimoniais e à inexistência de tabela de ajuste de doses na insuficiência renal, contraindica-se o seu uso em pacientes com qualquer grau de insuficiência renal. Nestes casos, a droga de escolha é o desoxicolato de anfotericina B ou suas formulações lipídicas. Diante da ausência de estudos conclusivos sobre a teratogenicidade dos antimoniais no período gestacional, a anfotericina B também é a droga de escolha para tratamento da LC durante a gravidez.<sup>17,18</sup>

A anfotericina B (AB), descoberta em 1956 por Gold e cols., é um antibiótico macrolídeo poliênico, que interage com o ergosterol da membrana celular, formando poros que alteram a permeabilidade celular e o balanço iônico, causando a morte da célula.<sup>18</sup> É considerada a droga de segunda escolha quando não se obtém resposta ao tratamento com o antimonial pentavalente ou na impossibilidade de seu uso. É contraindicada a administração da anfotericina B em cardiopatas, hepatopatas e, especialmente, nefropatas. Os efeitos adversos mais frequentes são febre, náuseas, vômitos, hipopotassemia e flebite no local da infusão. Estes efeitos podem ser atenuados ou evitados, acrescentando-se, ao soro da infusão, antitérmicos, antieméticos, reposição de potássio e hidrocorti-

sona - 50 a 100 mg. Outros efeitos adversos importantes são: anorexia, insuficiência renal, anemia, leucopenia e alterações cardíacas. Deve-se fazer semanalmente monitoramento eletrocardiográfico e laboratorial das enzimas hepáticas, função renal e potássio sérico.<sup>3</sup>

A absorção gastrointestinal da AB é muito pequena. Infusões endovenosas diárias da AB para adultos, em doses de 0,5 mg/kg, resultam em concentrações plasmáticas aproximadas de 1,0 a 1,5 µg/mL ao final da aplicação, e caem para 0,5 a 1,0 µg/mL nas 24 horas subsequentes. A droga é liberada do seu complexo com o desoxicolato na corrente sanguínea; a AB que permanece no plasma está predominantemente (90%) conjugada com proteínas, principalmente β-lipoproteínas. Aproximadamente, 2 a 5 % de cada dose está presente na urina, quando o paciente recebe doses diárias da AB. Doenças hepáticas ou biliares não têm nenhum efeito reconhecido no metabolismo da droga em seres humanos. Diante da maciça absorção pelos tecidos, há uma fase terminal de eliminação com meia-vida de, aproximadamente, 15 dias.<sup>18</sup>

A AB é eficaz na LTA cutânea ou mucosa. Seu uso é limitado, face à necessidade de internação hospitalar para aplicação.<sup>3</sup>

A pentamidina é um derivado sintético da amidina, eficaz contra grande número de protozoários patogênicos, incluindo espécies de *Leishmania*. A descoberta da atividade antiprotozoária das diamidinas foi conseqüente à procura por compostos hipoglicemiantes que pudessem comprometer o metabolismo energético de parasitas.<sup>19</sup>

Atualmente, é comercializada para uso humano apenas sob a forma liofilizada de isotionato de pentamidina, em frascos contendo 300 mg do sal. O mecanismo de ação da pentamidina ocorreria por inibição de diferentes processos celulares, ainda não totalmente elucidados. Recentemente, resistência à pentamidina tem sido descrita em tripanossomas e leishmânias.<sup>20-22</sup>

O isotionato de pentamidina é completamente absorvido após a administração parenteral. Conforme dados do fabricante (Pentacarinat®/Sanofi Aventis), após administração intramuscular (4 mg/kg), a droga atinge a concentração plasmática máxima de aproximadamente 0,2 µg/mL; a meia-vida de eliminação é de 9,4 horas (±2,0); a eliminação renal da substância não-modificada, em 24 horas, é de 4,1%; a depuração renal (*clearance*) é de 15,4 l/h (±14,9).

As principais reações adversas relacionadas à pentamidina são dor, endureção e abscessos estéreis no local da aplicação, além de náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgia, cefaleia, hipotensão, síncope, hipoglicemia e hiperglicemia transitórias. Para se evitar os efeitos decorrentes do metabolismo da glicose, o paciente deve ser orientado a alimentar-se antes e permanecer em repouso por 15 minutos após as injeções.

Casos de diabetes têm sido relatados em pacientes que receberam doses totais, em geral, superiores a 2,0 g.<sup>3</sup>

A pentamidina é um medicamento alternativo para os casos de LTA que não respondem aos antimoniais pentavalentes, ou na impossibilidade de seu uso. Os trabalhos de Pradinaud e Tálhari demonstraram bons resultados com baixas doses em LC causada por *L. (V.) guyanensis* - doses totais próximas a 1,0g.<sup>8,13,23</sup>

## MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa, desenvolvida na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas Heitor Vieira Dourado (FMTHVD), faz parte de estudo controlado, randomizado, aberto, multicêntrico, com 395 pacientes, de ambos os sexos, distribuídos em quatro cidades: Manaus-AM, Brasília-DF, Corte de Pedra-BA e Ribeirão Preto-SP. Em Manaus, foram avaliados 185 pacientes portadores de leishmaniose cutânea (LC), com diagnóstico clínico confirmado por exame direto (escarificação em lâmina), e que atenderam aos critérios de elegibilidade para o estudo. Estes pacientes constituíram aleatoriamente 3 grupos, sendo 2 deles com 74 e outro com 37 participantes. Para a escolha da alocação nos grupos de tratamento foi estabelecida uma lista de distribuição randômica, gerada pelo bioestatístico do projeto. Esses pacientes foram tratados com antimoniato de meglumina (NMG), isotionato de pentamidina ou anfotericina B (AB).

Foram incluídos pacientes diagnosticados com a forma cutânea da LTA, que procuraram a FMTHVD no período de janeiro de 2009 a fevereiro de 2010, e que concordaram em participar do estudo, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Durante a primeira consulta efetuou-se o preenchimento da ficha clínica, com exame detalhado da(s) lesão(ões), determinando-se tipo, localização, número e diâmetros (maior e menor), com a utilização de régua milimetrada (paquímetro), e o registro fotográfico das úlceras.

Foram realizadas avaliações laboratoriais (hematológica, hepática, pancreática e renal) antes do início do esquema terapêutico e ao final, sendo repetidas após 1 mês, caso alguma alteração tivesse sido detectada ao final do tratamento. Foi coletada uma amostra de 20 mL de sangue venoso periférico de cada paciente para hemograma, dosagens séricas de glicose, aminotransferases, ureia, creatinina e amilase, além de amostra para exame sumário de urina.

A avaliação cardiológica foi complementada com o eletrocardiograma (ECG) dos pacientes, no início do tratamento.

Critérios de inclusão:

Peso: maior que 8 kg;

Sexo: pacientes do sexo masculino ou feminino;

Clínica compatível com LC e exame direto positivo, por esfregaço, para *Leishmania*;

Tempo de doença: entre 1 e 3 meses de evolução;

Número de lesões: máximo de 6 lesões (leishmaniose cutânea localizada - LCL); presença de, no mínimo, 1 lesão ulcerada;

Ausência de comprometimento mucoso e de história, confirmada ou não, de lesão leishmaniótica cutânea pregressa;

Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Critérios de exclusão:

Tratamento prévio com antimoniais pentavalentes ou drogas leishmanicidas nos últimos 6 meses;

Evidência clínica e/ou laboratorial de alterações cardíacas (alterações eletrocardiográficas pré-tratamento);

Concomitância de tuberculose, hanseníase, câncer, *diabetes mellitus* ou outra doença grave;

Hipertensão arterial sistêmica, não-controlada (P.A.  $\geq$  a 160x95mmHg, verificada por, pelo menos, 3 vezes, em dias diferentes);

Evidência de comprometimento vascular periférico (presença de varizes em membros inferiores ou de lesões ulceradas, planas, hiperpigmentadas, dolorosas, mesmo na ausência de infecção secundária);

História de alcoolismo;

Tratamento com corticosteróides ou outro imunossupressor;

Gravidez;

AST  $\geq$  a 3 vezes o limite superior da normalidade;

ALT  $\geq$  a 3 vezes o limite superior da normalidade;

Creatinina sérica ou ureia  $\geq$  a 1,5 vez o limite superior da normalidade.

Critérios para retirada do estudo:

Intolerância ao esquema terapêutico (aparecimento de efeitos colaterais moderados ou graves que impeçam a continuidade do esquema terapêutico). Os efeitos colaterais foram classificados em leves, moderados e graves:

Efeitos colaterais leves: presença de sinais ou sintomas relacionados ao uso da medicação que puderam ser tolerados pelo paciente, sem necessidade de interferência medicamentosa sintomática, nem de interrupção da terapêutica específica;

Efeitos colaterais moderados: sinais ou sintomas relacionados ao esquema terapêutico que puderam ser suportados com o uso de medicamentos sintomáticos. A necessidade de suspensão temporária do tratamento específico, nesses casos, foi considerada após avaliação da resposta ao uso de sintomáticos;

Efeitos colaterais graves: sinais ou sintomas não-contornáveis, a não ser com a suspensão da medicação específica (alterações da função renal, hepática ou cardíaca, manifestadas clinicamente).

Não-aderência ao protocolo: falha na administração de 3 doses consecutivas, ou necessidade de 30 dias ou mais para realização do tratamento;

Solicitação expressa do paciente para retirar-se do estudo.

Diagnóstico laboratorial:

Exame direto - Foi realizada escarificação das bordas de até 3 lesões, seguida de coloração pelo GIEMSA ou Panótico.

Biópsia - Foram coletados 2 fragmentos para exame histopatológico e identificação das espécies, através da PCR.

Identificação das cepas - Foi realizada a técnica de PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), com *primers*, amplificando uma região do gene *hsp70* e do *mini-exon*, conforme trabalhos de Garcia e cols. e Marfurt e cols., respectivamente.<sup>24,25</sup>

Administração dos tratamentos:

Após o cadastramento, realização dos procedimentos diagnósticos e avaliação cardíaca, renal, hepática e randomização, os pacientes foram alocados no estudo. O objetivo principal foi a avaliação evolutiva da resposta terapêutica em doentes com LC, ocasionada por *L. (V.) guyanensis*, por meio do registro da cura clínica ou da falha terapêutica.

Antimonial - o medicamento é apresentado em ampolas de 5 ml, contendo 81 mg de antimônio pentavalente ( $Sb^{+5}$ ) por mL. A dose foi de 15 mg/kg/dia, durante 20 dias, administrada por via endovenosa (EV) ou intramuscular (IM). Houve orientação para que a aplicação EV fosse lenta, por aproximadamente 5 minutos, sem necessidade de diluição; foi recomendado repouso após a aplicação. A dose máxima foi de 15 mL/dia. O paciente recebia a medicação, que era aplicada em posto de saúde.

Pentamidina - foram administradas 3 doses de 4mg/kg, de 72 em 72 horas, por via intramuscular profunda, com o paciente deitado. O conteúdo de um frasco foi dissolvido em 6ml de água estéril para injeção. Essa aplicação foi realizada no Ambulatório de Dermatologia, após administração de refeição rica em glicídios, para reduzir seu efeito hipoglicemiante. A dose máxima foi de 300 mg/dose.

Anfotericina B - a administração foi de 1mg/kg/dia, por via EV, durante 20 dias. Nos 2 dias iniciais foi utilizada dose máxima menor (0,5 mg/kg/dia), para avaliação da tolerância clínico-laboratorial do paciente à medicação. Estas 2 primeiras doses não foram consideradas no cálculo dos 20 dias de tratamento. A infusão venosa foi realizada no Hospital-dia da FMTHVD, seguindo todos os procedimentos recomendados para a administração da droga.

Acompanhamento - o acompanhamento clínico foi realizado aos 30, 60 e 180 dias após o final do tratamento. As avaliações laboratoriais foram repetidas

no seguimento de 30 dias. As demais avaliações eram clínicas: sinais vitais, peso e documentação fotográfica das lesões (Figuras 1 a 4).

Critérios de cura utilizados:

Cura aparente - completa epitelização de todas as úlceras e ausência de qualquer sinal de reação inflamatória até 60 dias após o término do tratamento.

Cura definitiva - cicatrização completa de todas as úlceras e ausência de qualquer sinal de reação inflamatória aos 180 dias após o final do tratamento.

Falha terapêutica - aparecimento de qualquer nova lesão ou 50% de aumento de lesões previamente documentadas, 60 dias após o término do tratamento.

Tratamento de resgate - realizado em casos com piora clínica atribuída à leishmaniose, apesar do tratamento. A droga de escolha foi o isotionato de pentamidina, com a mesma posologia utilizada no tratamento inicial.



Figura 1: Paciente 1: Lesão ulcerada em região dorsal do pé esquerdo, antes do tratamento com pentamidina



FIGURA 2: Paciente 1: Cicatriz atrófica, seis meses após o término do tratamento com pentamidina



FIGURA 3: Paciente 2: Úlcera em região posterior da perna esquerda, antes do tratamento com meglumina



FIGURA 4: Paciente 2: Lesão cicatricial, seis meses após o término do tratamento com meglumina

## RESULTADOS

Durante 13 meses (janeiro de 2009 a fevereiro de 2010), 313 pacientes portadores de LC e com exame direto positivo foram avaliados para participar do estudo. Desses, 128 foram excluídos por: morarem em estradas distantes de Manaus (n=57); indisponibilidade para as visitas (n=10); recusarem-se a participar (n=10); apresentarem mais de 6 lesões (n=9); não terem lesão ulcerada (n=14); apresentarem lesão maior que 5 cm (n=2); terem passado por tratamentos anteriores (n=11); estarem grávidas (n=6); apresentarem doenças associadas (n=5); estarem em trânsito (n=4).

Ao todo, 185 pacientes preencheram os critérios de elegibilidade e foram arrolados no estudo: 74 para o braço de antimonial, 74 para pentamidina e 37 para anfotericina B. Todos os pacientes adquiriram a doença em áreas endêmicas, na periferia de Manaus. Os pacientes arrolados eram de ambos os gêneros: 44 mulheres e 141 homens, com idades variando de 5 a 65 anos. Não houve diferença entre os grupos de tratamento em relação a gênero, idade, número ou localização das lesões (Tabelas 1 e 2). Em 163 (88,1%) pacientes, a espécie encontrada foi *L. guyanensis*; 9 (4,9%) tinham *L. brasiliensis* e 13 (7,0%) não tiveram a espécie identificada (Tabela 3). Para o cálculo da eficácia, apenas os pacientes com *L. guyanensis* foram avaliados, sendo excluídos 11 pacientes do grupo antimonial, e 12 da pentamidina; o grupo da anfotericina B foi analisado separadamente, pois 28 (75,7%) de seus pacientes negaram-se a continuar participando, após a randomização. Foram considerados, para a análise de eficácia, 58 pacientes do grupo antimonial e 58 para a pentamidina. Foram perdidos, durante o seguimento, 5 pacientes do grupo antimonial, e 4 da

pentamidina. Dois pacientes do grupo antimonial e 1 da pentamidina retiraram-se do estudo após a randomização, por preferirem outra medicação (Tabela 4).

Toxicidade e tolerabilidade: As drogas utilizadas no estudo foram bem toleradas. Nenhum evento adverso grave ocorreu. Dois pacientes do grupo da AB precisaram interromper o tratamento, um deles devido à hipopotassemia e outro devido a náuseas durante a infusão. Entre os pacientes do grupo do antimonial, 20,3% apresentaram artralgia e 9,5%, cefaleia. Nos pacientes que usaram pentamidina, os efeitos colaterais mais frequentes foram dor (35,1%) ou endurecimento (10,8%) no local das injeções (Tabela 5).

Eficácia: Os índices de cura ao final de 6 meses (cura definitiva) foram 55,5% e 58,1% ( $p=0,857$ ) para antimonial e pentamidina, respectivamente, considerando-se apenas pacientes com *L. guyanensis*. Se analisarmos apenas o tratamento, independentemente da espécie de leishmânia envolvida, em 145 pacientes, a eficácia para o antimonial é 56,9% e, para a pentamidina, 60,3% ( $p=0,737$ ) (Tabela 6).

## DISCUSSÃO

Embora o tratamento para a LTA preconizado pelo Ministério da Saúde (MS) seja único para todo o país, independentemente da espécie de *Leishmania* causadora da doença, são poucos os ensaios clínicos mostrando a real eficácia destas drogas. Sabe-se que a resposta ao tratamento com antimonial (droga de 1ª linha) pode variar de acordo com a cepa do parasito, estado imunológico do paciente e forma clínica. Estudos moleculares do parasito têm mostrado sua ampla diversidade, incluindo subespécies de *L.(V) brasiliensis*.<sup>26</sup> Variações genéticas de uma espécie podem dar origem a características como diversidade

TABELA 1: Análise da homogeneidade entre os grupos terapêuticos em relação às faixas etárias e ao gênero

	Meglumina (%)	Pentamidina (%)	Anfotericina B (%)	Total
<b>Faixas etárias</b>				
Menor de 18	14 (48.3)	15 (51.7)	9 (24.3)	38
18  -- 36	43 (51.8)	40 (48.2)	19 (51.4)	102
36  -- 54	16 (50.0)	16 (50.0)	7 (18.9)	39
54 e mais	1 (25.0)	3 (75.0)	2 (5.4)	6
Média±DP	28,5 ± 11,4	29,3 ± 12,7	28,8 ± 13,6	
	pvalor = 0.94**	0.89*		
<b>Sexo</b>				
Feminino	18 (48.6)	19 (51.4)	7 (18.9)	44
Masculino	56 (50.5)	55 (49.5)	30 (81.1)	141
	pvalor = 0.726*			

\*Teste Exato de Fisher / \*\*Kruskal-Wallis  
DP=Desvio-Padrão

TABELA 2: Análise da homogeneidade entre os grupos terapêuticos em relação à localização das lesões

Local	Meglumina	Pentamidina	Anfotericina B	pvalor*
<b>Cabeça</b>				
não	72	68	32	0.099
sim	2	6	5	
<b>MS</b>				
não	45	49	23	0.783
sim	29	25	14	
<b>MI</b>				
não	35	34	17	0.984
sim	39	40	20	
<b>TR</b>				
não	60	60	29	0.933
sim	14	24	8	

\*Teste de Qui-quadrado  
MS=Membros superiores  
MI=Membros inferiores  
TR=Tronco

antigênica, virulência, patogenicidade e resistência às drogas. Diferenças genéticas e raciais podem ter papel na resolução da doença. Acredita-se que a gravidade da doença possa interferir na resposta terapêutica, e algumas espécies de parasitos são mais susceptíveis ao antimonial de maneira inata.<sup>27</sup>

A *L. (V.) guyanensis* é a segunda espécie mais prevalente no Brasil, sendo uma das mais comuns na região amazônica. Nos últimos 10 anos, foram realizados somente 2 ensaios clínicos de eficácia, identificando as espécies. Romero e cols., em 2001, obtiveram índice de cura para o antimonial pentavalente de 26,3%. Mais recentemente, em 2009, o antimonial pentavalente foi comparado à miltefosina e os índices de cura foram 53,3% e 70,7% ( $p=0,05$ ), respectivamente.<sup>5,11</sup> Essa diferença entre a eficácia poderia ser explicada pela provável variabilidade genética entre as cepas de *L. (V.) guyanensis*, resultando em diferentes susceptibilidades ao tratamento. Estudo realizado na Guiana Francesa, utili-

zando *ribosomal fingerprinting analysis*, identificou 2 populações distintas de *L. (V.) guyanensis*.<sup>28</sup>

A pentamidina, segunda opção de tratamento para a LTA no Brasil,<sup>3</sup> é a droga de primeira linha no Suriname e Guiana Francesa, onde predomina *L. guyanensis*.<sup>29</sup> Na Guiana Francesa, em pacientes com LC, o mesilato e o isotionato de pentamidina, na dose de 4mg/kg/dia, em duas aplicações com intervalo de 48h, propiciaram a cura de quase 100% dos enfermos, sem efeitos adversos importantes.<sup>10</sup> No Suriname, estudo retrospectivo de pacientes tratados entre os anos de 1979 e 2000, com mesilato de pentamidina (120mg/dia/IM, durante 7 dias), ou isotionato de pentamidina (300mg/semana/IM, durante 3 a 5 semanas), encontrou taxas de cura de aproximadamente 90%. Boca amarga, náuseas, dor no local da injeção e sintomas cardiorrespiratórios (obstrução nasal, dispneia, hiperpneia e palpitações) foram as manifestações adversas relatadas.<sup>30</sup>

TABELA 3: Resultados das identificações pela PCR-RFLP

Identificações por PCR-RFLP	Meglumina	%	Pentamidina	%	Anfotericina B	%
<i>L. braziliensis</i>	4	5,4	5	6,8	0	0,0
<i>L. guyanensis</i>	65	87,8	63	85,1	35	94,6
Negativo em biópsia	5	6,8	6	8,1	2	5,4

TABELA 4: Comparação da eficácia terapêutica entre meglumina e pentamidina, apenas para LC por *L. guyanensis*

	Meglumina	%	Pentamidina	%
<b>Cura definitiva</b>	35	53,8	36	57,1
<b>Falha clínica</b>	23	35,4	22	34,9
<b>Perda</b>	5	7,7	4	6,3
<b>Excluído 2</b>	3,1	1	1,6	
<b>Total</b>	65		63	
		<i>p</i> =0,99*		
<b>ITT</b>		<b>55,5</b>		<b>58,1</b>
IC 95%	35/63	(42,5 – 68,1)	36/62	(44,8 – 70,5)
		<i>p</i> =0,857*		
<b>PP</b>		<b>60,3</b>		<b>62,1</b>
IC 95%	35/58	(46,7 – 72,9)	36/58	(48,4 – 74,5)
		<i>p</i> =0,99*		

\*Teste Exato de Fisher

IC=Intervalo de confiança

ITT=Análise por intenção de tratar

PP=Análise pelo protocolo

No Brasil, um estudo comparando a eficácia de 3 aplicações de isotionato de pentamidina, na dose de 4mg/kg/dia, por via IM, em dias alternados, e NMG, na dose de 20 mg Sb<sup>+5</sup>/kg/dia, durante 20 dias, por via EV, apontou eficácias semelhantes - 71% e 73,2%, respectivamente. A maioria das espécies, identificadas por técnica de anticorpos monoclonais, em 21 isolados, foi *L. (V.) brasiliensis* (57,14%). Observou-se a redução do tempo de tratamento e menor toxicidade cardíaca no grupo da pentamidina. Os principais eventos adversos foram tontura, lipotímia e dor no local das injeções.<sup>14</sup> Em Manaus, estado do Amazonas, os resultados com pentamidina são similares aos observados por Pradinaud<sup>25</sup> e Talhari e cols.<sup>8,13</sup>

A anfotericina B é eficaz nas formas cutânea e mucosa da LTA, porém, seu uso é limitado, face à necessidade de internação hospitalar para aplicação.

No presente ensaio clínico, 28 (75,7%) dos pacientes randomizados para esse braço negaram-se a continuar no estudo ao saberem que necessitariam vir ao hospital, no mínimo, durante 20 dias. Diante do reduzido número de pacientes tratados com Anfotericina B, este medicamento não foi considerado na análise deste ensaio clínico.

Os dados da análise estatística, com 58,1% de eficácia para a pentamidina e 55,5% para o antimonial, evidenciaram que os 2 medicamentos são similares. Porém, quando se avalia a efetividade, observa-se que o tratamento com a pentamidina é mais prático para os pacientes, pois são necessárias apenas 3 injeções, com intervalos de 2 dias. Por outro lado, o tratamento com antimonial é mais longo - total de 20 injeções, por via EV. Uma desvantagem importante para a pentamidina é a necessidade de ser aplicada



**TABELA 5:** Comparação entre os efeitos adversos associados aos tratamentos com meglumina e pentamidina

Efeitos adversos	Meglumina	%	Pentamidina	%
Artralgia*	15	20,3	3	4,1
Astenia	4	5,4	2	2,7
Cefaleia	7	9,5	2	2,7
Distúrbios visuais	1	1,4	1	1,4
Dor nos locais das injeções*	0	0,0	26	35,1
Emagrecimento	1	1,4	0	0,0
Enduração*	0	0,0	8	10,8
Febre	2	2,7	3	4,1
Hipotensão arterial	0	0,0	1	1,4
Hiporexia	2	2,7	0	0,0
Mialgia	3	4,1	1	1,4
Náuseas ou vômitos	2	2,7	1	1,4
Palpitações/Taquicardia	0	0,0	1	1,4
Plenitude gástrica	1	1,4	0	0,0
Reações cutâneas	6	8,2	3	4,1
Sintomas gripais	1	1,4	0	0,0
Sonolência	1	1,4	1	1,4
Tontura	2	2,7	9	12,2

\*significativo para Teste Exato de Fisher

**TABELA 6:** Comparação da eficácia terapêutica entre meglumina e pentamidina, independentemente da espécie

	Meglumina	%	Pentamidina	%
<b>Cura definitiva</b>	41	55,4	44	59,5
<b>Falha clínica</b>	25	33,8	25	33,8
<b>Perda</b>	6	8,1	4	5,4
<b>Excluído</b>	2	2,7	1	1,4
Total	74		74	
		p=0,834*		
<b>ITT</b>		<b>56,9</b>		<b>60,3</b>
IC 95%	41/72	(4,7 - 68,6)	44/73	(48,1 - 71,5)
		p=0,857*		
<b>PP</b>		<b>60,3</b>		<b>62,1</b>
IC 95%	41/66	(49,3 - 73,8)	44/69	(51,3 - 75,0)
		p=0,86*		

\*Teste Exato de Fisher

IC=Intervalo de confiança

ITT=Análise por intenção de tratar

PP=Análise pelo protocolo

por via IM profunda, em âmbito ambulatorial, face à possibilidade de efeitos colaterais imediatos, como a hipoglicemia e surgimento de reações (plastrões) nos locais das aplicações, se a administração for superficial.

O custo da pentamidina é maior do que o do antimonial. Porém, do ponto de vista operacional, os gastos com o antimonial tornam-se maiores, pois são necessárias várias aplicações, diárias, deslocamentos

de grandes distâncias, com interferência no trabalho e, muitas vezes, pagamento das aplicações.

## CONCLUSÃO

Os autores concluem que a pentamidina e o antimonial apresentam eficácias similares para o tratamento da LTA ocasionada por *L.(V.) guyanensis*. A pentamidina tem a vantagem de ser utilizada por tempo mais curto e apresentar menos efeitos adver-

sos. Para a maioria dos pacientes, o antimônio é mais difícil de ser administrado, pois estas pessoas residem em estradas, distantes de unidades de saúde, sendo, muitas vezes, difícil encontrar pessoas habilitadas para a aplicação de medicação endovenosa.

Os baixos resultados de eficácia do antimônio e pentamidina, bem como as dificuldades operacionais relacionadas à anfotericina B, evidenciam a necessidade, urgente, de novas opções terapêuticas para o tratamento da LTA. □

## REFERENCES

- World Health Organization. [Internet]. Report of the Consultative Meeting on Cutaneous Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2008. [cited 2010 Aug. 20]. Available from: <http://www.who.int>.
- saude.gov [Internet]. Leishmaniose Tegumentar Americana [acesso: 20 Ago. 2010]. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1560](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1560)
- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Série A. Normas e Manuais Técnicos. 2 ed. atual. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2007. 180 p.
- Naiff MF, Cupolillo E, Naiff RD, Momen H, Barret TV, Grimaldi Jr. G. Leishmaniose tegumentar americana na Amazônia: distribuição geográfica dos agentes etiológicos na região. Rev Soc Bras Med Trop. 1999;32 Suppl 1:243.
- Chrusciak Talhari A. Pesquisa clínica para avaliar a eficácia e segurança da miltefosina oral em pacientes com leishmaniose cutânea causada por *Leishmania guyanensis*, comparada ao tratamento com antimônio pentavalente [tese]. Manaus (AM): Universidade do Estado do Amazonas/Fundação de Medicina Tropical do Amazonas; 2009. 132p.
- Silveira FT, Lainson R, Gomes CM, Laurenti MD, Corbett CE. Reviewing the role of the dendritic Langerhans cells in the immunopathogenesis of American cutaneous leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008;102:1075-80.
- Matta NE, Nogueira RS, Franco AM, de Souza E Souza I, Mattos MS, Oliveira-Neto MP et al. *Leishmania* (Viannia) *guyanensis* induces low immunologic responsiveness in leishmaniasis patients from an endemic area of the Brazilian Amazon Highland. Am J Trop Med Hyg. 2009;80:339-44.
- Talhari S, Arias JR, Cunha MGS, Naiff RD, Naiff MF, Freitas RA, Barrett T. Leishmaniose no estado do Amazonas: aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. An Bras Dermatol. 1988;63:433-8.
- de Oliveira Guerra JA, Talhari S, Paes MG, Garrido M, Talhari JM. Clinical and diagnostic aspects of American tegumentary leishmaniasis in soldiers simultaneously exposed to the infection in the Amazon Region. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36:587-90.
- Nacher M, Carme B, Sainte Marie D, Couppié P, Clyti E, Guibert P, et al. Influence of clinical presentation on the efficacy of a short course of pentamidine in the treatment of cutaneous leishmaniasis in French Guiana. Ann Trop Med Parasitol. 2001;95:331-6.
- Romero GA, Guerra MV, Paes MG, Macêdo VO. Comparison of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: therapeutic response to meglumine antimoniate. Am J Trop Med Hyg. 2001;65:456-65.
- Arevalo J, Ramirez L, Aduvi V, Zimic M, Tulliano G, Miranda-Verástegui C, et al. Influence of *Leishmania* (Viannia) species on the response to antimonial treatment in patients with American tegumentary leishmaniasis. J Infect Dis. 2007;195:1846-51.
- Talhari S, Sardinha JC, Schettini APM, Arias JR, Naiff RD. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. Resultados preliminares com a pentamidina. An Bras Dermatol. 1985;60:361-4.
- Paula CDR, Sampaio JHD, Cardoso DR, Sampaio RNR. 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. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36:365-71.
- Lima EB, Porto C, Motta JCO, Sampaio RNR. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. An Bras Dermatol. 2007;82:111-24.
- Franke ED, Wignall FS, Cruz ME, Rosales E, Tovar AA, Lucas CM, et al. Efficacy and toxicity of sodium stibogluconate for mucosal leishmaniasis. Ann Intern Med. 1990;113:934-40.
- Leonard A, Gerber GB. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of antimony compounds. Mutations Research 1996;366:1-8.
- Tracy JW, Webster Jr LT. Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections: amebiasis, trichomoniasis, trypanosomiasis, leishmaniasis, and other protozoal infections. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p 1097-113.
- Lourie EM, York W. Studies in chemotherapy XXI. The trypanocidal action of certain aromatic diamidines. Ann Trop Med Parasitol. 1939;33:289-304.
- Werbovetz K. Diamidines as antitrypanosomal, antileishmanial and antimalarial agents. Curr Opin Inv Drugs. 2006;7:147-57.
- Coelho AC, Messier N, Ouellette M, Cotrim PC. Role of the ABC transporter PRP1 (ABCC7) in pentamidine resistance in *Leishmania* amastigotes. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:3030-2.
- Bourreau E, Ronet C, Darsissac E, Lise MC, Marie DS, Clity E, et al. In leishmaniasis due to *Leishmania guyanensis* infection, distinct intralosomal interleukin-10 and Foxp3 mRNA expression are associated with unresponsiveness to treatment. J Infect Dis. 2009;199:576-9.
- Pradinaud R. Tegumentary leishmaniasis in French Guiana. Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1985;81:738-9.
- Garcia L, Kindt A, Bermudez H, Llanos-Cuentas A, De Doncker S, Arevalo J, et al. Culture-independent species typing of neotropical *Leishmania* for clinical validation of a PCR-based assay targeting heat shock protein 70 genes. J Clin Microbiol. 2004;42:2294-7.
- Marfurt J, Nasereiddin A, Niederwieser I, Jaffe CL, Beck HP, Felger I. Identification and differentiation of *Leishmania* species in clinical samples by PCR amplification of the minixon sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin Microbiol. 2003;41:3147-53.
- Cupolillo E, Momen H, Grimaldi Jr G. Genetic diversity in natural populations of New World *Leishmania*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998;93:663-8.
- Grogl M, Thomason TN, Franke ED. Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. Am J Trop Med Hyg. 1992;47:117-26.
- Rotureau B, Ravel C, Nacher M, Couppié P, Curtet I, Dedet JP, et al. Molecular epidemiology of *Leishmania* (Viannia) *guyanensis* in French Guiana. J Clin Microbiol. 2006;44:468-73.
- van der Meide WF, Sabajo LO, Jensema AJ, Peekel I, Faber WR, Schallig HD, et al. Evaluation of treatment with pentamidine for cutaneous leishmaniasis in Suriname. Int J Dermatol. 2009;48:52-8.
- Lai A Fat EJ, Vrede MA, Soetosenojo RM, Lai A Fat RF. Pentamidine, the drug of choice for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Surinam. Int J Dermatol. 2002;41:796-800.

### MAILING ADDRESS / ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

**Leandro Ourives Neves**  
 Av. Pedro Teixeira, 25, Dom Pedro I  
 69040 000 - Manaus, AM  
 E-mail: [lourives@ig.com.br](mailto:lourives@ig.com.br)

Como citar este artigo/How to cite this article: Ourives-Neves L, Chrusciak-Talhari A, Gadelha EPN, da Silva Júnior RM, Guerra JAO, Ferreira LCL, Talhari S. Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. An Bras Dermatol. 2011;86(6):1092-101.