

InfoLEISH

Boletim informativo da redeLEISH - 6ª edição

Julho de 2022

EDITORIAL

Como diz o ditado, “nada dura para sempre”. À medida que caminhamos para a segunda metade de 2022, várias das restrições impostas pela pandemia de COVID-19 começam a ser abrandadas. Algumas coisas nunca voltarão a ser como antes, mas o que aprendemos nestes últimos dois anos com certeza nos ajudará a enfrentar os desafios do futuro.

O programa de LC da DNDi continua avançando e vários marcos foram alcançados nos últimos doze meses. O estudo de dose única ascendente com o CpG-D35, realizado no Reino Unido em voluntários saudáveis, terminou em novembro de 2021. Com base nos resultados preliminares, que indicam que o CpG-D35 é seguro e provoca os efeitos imunológicos esperados, estamos preparando um estudo de dose múltipla ascendente, que deve ter início no quarto trimestre de 2022.

Para alavancar ainda mais o portfólio rico e variado de NEQs que a DNDi possui para leishmaniose, iniciamos no final de 2021 um projeto de três anos para compreender melhor a farmacocinética e farmacodinâmica cutânea das NEQs orais identificadas para a LV e que se encontram em estágio mais avançado de desenvolvimento. Este projeto produzirá conhecimentos pré-clínicos de alto valor translacional e aumentará a probabilidade de que estes candidatos sejam promovidos com sucesso à etapa de estudos clínicos para a LC.

Continuamos defendendo a substituição dos antimonials sistêmicos no tratamento dos casos de LC não complicada. Assim, além de continuarmos com o estudo de Fase III para avaliar a combinação de termoterapia com miltefosina no Panamá, Peru, Brasil e Bolívia, também apoiamos as iniciativas de nossos parceiros para ampliar o uso de intervenções locais para a LC não complicada.

Por fim, e não menos importante, acredito que todos os “Leishmaníacos” devem estar entusiasmados para participar do tão aguardado WL7, que será realizado em Cartagena das Índias, na Colômbia. Espero encontrar todos vocês por lá.

BYRON ARANA, DNDi





Sumário

01 Editorial

02 redeLEISH: conquistas, perspectivas e desafios na promoção da pesquisa colaborativa para a leishmaniose cutânea

04 Atualização das diretrizes da OPAS para o tratamento das leishmanioses nas Américas: perspectivas de adoção e desafios

07 Estudo prospectivo de avaliação de intervenções locais para o tratamento da leishmaniose cutânea

08 Tratamentos locais para a leishmaniose cutânea na Etiópia: da pesquisa ao acesso

09 Primeiro estudo em humanos do CpG ODN D35, um agonista do receptor do tipo Toll 9, demonstra sua segurança e efeitos imunológicos em voluntários saudáveis

10 Panorama atual e perspectivas no desenvolvimento de testes diagnósticos para leishmaniose cutânea

12 Tratamentos pediátricos: uma necessidade desatendida

13 Paromomicina gel para o tratamento da leishmaniose cutânea: os desafios do desenvolvimento de um produto farmacêutico por instituições públicas brasileiras

15 A construção de uma trajetória de desenvolvimento translacional de medicamentos de uso oral para a leishmaniose cutânea

REDELEISH: CONQUISTAS, PERSPECTIVAS E DESAFIOS NA PROMOÇÃO DA PESQUISA COLABORATIVA PARA A LEISHMANIOSE CUTÂNEA

JOELLE RODE, DNDi



As redes de pesquisa que incorporam atores diversos, incluindo especialistas médicos e científicos, instituições acadêmicas e de pesquisa públicas e privadas, representantes governamentais e organizações internacionais são parte de uma tendência mundial para promover as colaborações regionais e internacionais e a coordenação na pesquisa. A redeLEISH faz parte desse cenário e é uma das atividades desenvolvidas pela DNDi para reforçar a capacidade de pesquisa clínica existente nos países endêmicos e desenvolver novos tratamentos adaptados às necessidades dos pacientes. O envolvimento de especialistas e instituições de países endêmicos garante que as prioridades de pesquisa estejam centradas nas necessidades dos pacientes e tenham impacto significativo na saúde pública.

A redeLEISH tem por objetivo apoiar a implementação de ensaios clínicos de avaliação de novas ferramentas terapêuticas para a leishmaniose, promover o intercâmbio de informações técnicas e

científicas, apoiar a implementação de projetos colaborativos de pesquisa, facilitar o consenso sobre as prioridades de pesquisa e a harmonização de metodologias e desenho de estudos clínicos, e incentivar debates sobre os desafios na pesquisa e desenvolvimento para a leishmaniose e estratégias para garantir que as novas opções de tratamento tenham impacto na saúde pública.

Coordenadas pela DNDi, as atividades da redeLEISH são orientadas por um comitê técnico composto por representantes de instituições parceiras na América Latina e a assessora regional da OPAS/OMS para a leishmaniose, que é membro permanente. O comitê oferece conselhos científicos e recomendações sobre as necessidades e prioridades regionais. As principais ferramentas de comunicação e interação entre os membros da redeLEISH são o web fórum virtual, o boletim anual e as reuniões periódicas.

A redeLEISH tem se expandido desde sua criação em 2014 e hoje é uma

rede efetiva de especialistas e centros de pesquisa voltados para a leishmaniose cutânea (LC), tendo se estabelecido como uma força motriz para a implementação de ensaios clínicos e projetos colaborativos na região. Ela tem desempenhado um papel importante na realização de ensaios de Fase II e III para a avaliação da eficácia e segurança da combinação de termoterapia e miltefosina no tratamento da LC não complicada, assim como do ensaio clínico para a avaliação da eficácia e segurança de miltefosina e anfotericina B lipossomal no tratamento da leishmaniose mucocutânea (LM). Este último é um projeto colaborativo que reúne cinco instituições da redeLEISH e surgiu a partir da identificação da LM como prioridade de pesquisa e do lançamento, no quarto encontro da redeLEISH realizado durante o Congresso WorldLeish6, do Manifesto que pede apoio à pesquisa em LM, o qual foi endossado pelos membros da redeLEISH e pela Sociedade Brasileira de Medicina Tropical¹.

Referências

¹CARVALHO, E., LLANOS-CUENTAS, A., ROMERO, G. Mucosal leishmaniasis: urgent need for more research. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.51 no.1 Uberaba Jan./Feb. 2018



A promoção da pesquisa colaborativa tem sido um aspecto importante da rede desde seu lançamento. O primeiro projeto colaborativo de pesquisa teve início em 2014 com o objetivo de identificar a diversidade de espécies de *Leishmania* em amostras clínicas de pacientes com LC em quatro centros de referência brasileiros para a doença. No entanto, a maior conquista da redeLEISH ao longo dos anos foi a realização e finalização de um projeto de intercâmbio de dados visando descrever a eficácia e tolerabilidade dos tratamentos da LC usados na rotina em crianças com idade ≤ 10 anos e adultos com idade ≥ 60 anos. O projeto, descrito na edição anterior do InfoLEISH, contou com a participação de um consórcio de 11 instituições da redeLEISH do Brasil, Colômbia, Bolívia e Peru e foi proposto por pesquisadores durante um dos encontros anuais da rede. Esta frutífera colaboração abre caminho dentro da redeLEISH para a implementação de outros projetos colaborativos de diagnóstico e tratamento de pacientes com LC, de acordo com as prioridades identificadas.

Em colaboração com o TDR/OMS, a rede também contribuiu para os esforços de padronização dos critérios de realiza-

ção de ensaios clínicos em LC², atualmente amplamente aceitos e utilizados pelos pesquisadores da redeLEISH. Em 2021, com base nos resultados de uma revisão da literatura, especialistas e pesquisadores do Novo Mundo e do Velho Mundo recomendaram terminar no período de 90 a 120 dias a partir do início do tratamento o seguimento de pacientes incluídos em ensaios clínicos de avaliação da eficácia de tratamentos para a LC. A recomendação levará a ensaios clínicos mais eficazes, beneficiando pacientes, desenvolvedores de medicamentos e responsáveis por políticas públicas. A redeLEISH continuará seus esforços para expandir a adoção de metodologias padronizadas na condução de ensaios clínicos em LC, algo essencial para a incorporação de inovações terapêuticas e para orientar recomendações de tratamentos baseadas em evidências.

O objetivo para os próximos anos é manter e aumentar a participação de pesquisadores e colaboradores da América Latina e atrair pesquisadores do Velho Mundo. Um dos desafios será adaptar as ferramentas de comunicação da rede, e especialmente o fórum virtual, para aumentar a participação dos membros

e tornar as discussões mais dinâmicas e relevantes. As reuniões presenciais anuais também foram impactadas pela pandemia de COVID-19, sendo que a última foi realizada em 2019. Mesmo com a realização de reuniões virtuais *ad hoc*, que continuarão ocorrendo, os encontros presenciais precisam ser mantidos, uma vez que iniciativas-chave da redeLEISH surgiram nestas reuniões.

Em suma, graças à participação de todos os seus membros, a redeLEISH chegou a um estágio de maturidade e vem se configurando como uma força motriz para o fomento de projetos colaborativos e a implementação de ensaios clínicos para a leishmaniose de acordo com padrões internacionais de qualidade e ética em pesquisa. A rede será essencial para o desenvolvimento de novas entidades químicas que cheguem à fase clínica e para qualquer grupo de pesquisa que esteja desenvolvendo novos tratamentos para a LC/LM. Ela viabilizará a disponibilização para os pacientes de novas opções terapêuticas, de maneira coordenada e maximizando as competências e os poucos recursos existentes para o combate a esta doença negligenciada. •

2013

- Identificação de centros de pesquisa brasileiros

2014

- Lançamento da redeLEISH
- Metodologia para ensaios clínicos em LC
- Estudo de identificação de *Leishmania sp.* no Brasil

2015

- Expansão para países da América Latina
- TPP para o teste de diagnóstico rápido de LC
- Web fórum

2016

- 1º boletim
- Critérios padronizados para ensaios clínicos em LC no Novo Mundo
- Harmonização dos métodos de PCR para o diagnóstico da LC

2020-2021

- Conclusão do projeto de intercâmbio de dados
- Consenso sobre o tempo de seguimento em ensaios clínicos de LC
- Estudo de fase III Milt+TT

2019

- Projeto de intercâmbio de dados

2018

- ABRAPLeish
- Estudo sobre LM no Brasil

2017

- 1º Manifesto em apoio à pesquisa em LM

Referências

²OLLIARO, P. et. al. Harmonized clinical trial methodologies for localized cutaneous leishmaniasis and potential for extensive network with capacities for clinical evaluation. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2018

ATUALIZAÇÃO DAS DIRETRIZES DA OPAS PARA O TRATAMENTO DAS LEISHMANIOSES NAS AMÉRICAS: PERSPECTIVAS DE ADOÇÃO E DESAFIOS

ANA NILCE SILVEIRA MAIA-ELKHOURY e SAMANTHA YURI OSHIRO VALADAS-ROCHA, Doenças Transmissíveis e Determinantes Ambientais da Saúde (CDE-VT), Organização Pan-americana da Saúde (OPAS/OMS), Brasil



As leishmanioses são doenças negligenciadas que afetam principalmente as pessoas mais pobres e com menos acesso aos serviços de saúde¹. Nas Américas, elas são causadas por várias espécies de *Leishmania*, influenciando o desenvolvimento das diversas manifestações clínicas que variam de formas benignas e autolimitadas a formas mais graves, assim como a resposta ao tratamento²⁻⁷. Cerca de 45.000 novos casos de leishmaniose cutânea e mucocutânea (LC e LM) e 3.000 novos casos de leishmaniose visceral (LV) são reportados todos os anos, distribuídos em 18 e 13 países endêmicos, respectivamente. A atualização das diretrizes para o tratamento das leishmanioses nas Américas, com base nas evidências disponíveis na região, foi publicada em 2022 com o propósito de fornecer recomendações para o tratamento das várias formas clínicas da doença⁸.

A metodologia utilizada para a elaboração dessas diretrizes se baseou no Manual da OMS, que assegura a transparência da relação entre a base de evidências e

as recomendações. O processo foi seguido desde o planejamento até a aplicação e divulgação, incluindo a formulação de perguntas no formato PICO (população, intervenção, comparação e desfecho), a revisão sistemática e a formulação de recomendações com base na metodologia GRADE de classificação de recomendações, desenvolvimento e avaliação⁹. Além disso, considerou-se o equilíbrio entre a certeza das evidências, a relação risco benefício, os valores e preferências, as implicações nos recursos, a viabilidade da implementação da intervenção, o impacto na equidade e a aceitação das partes interessadas. Quando não foram encontrados estudos que amparassem as recomendações, os pontos com as melhores práticas foram atualizados a partir das diretrizes anteriores e complementados por debates do grupo de especialistas participantes com base no perfil de segurança dos medicamentos, em estudos com outras populações e na experiência clínica de manejo de pacientes com leishmaniose.

As recomendações são apresentadas nas tabelas 1 e 2 por forma clínica da

leishmaniose, e classificadas de acordo com o grau de evidência e a força da recomendação. Os principais avanços estão na forma cutânea da doença, já que as recomendações atuais são apresentadas segundo a faixa etária do paciente e a espécie de *Leishmania* presumida. No entanto, a identificação da espécie de *Leishmania* não é determinante para o início do tratamento. Quando se sabe a espécie mais prevalente na área endêmica, deve-se iniciar o tratamento com base no estado clínico, a disponibilidade do medicamento e a avaliação de risco benefício. Outros avanços para a LC incluem a indicação de recomendação forte para o uso de tratamentos locais em um grupo específico de pacientes com LC localizada, assim com a ampliação do uso de terapias orais para a LC causada por *L. mexicana* e *L. braziliensis*. No caso da LV, a recomendação de uso de anfotericina B lipossomal passou para forte e o grupo de especialistas decidiu pela recomendação forte contrária ao uso de miltefosina para pacientes com LV e de antimoniais pentavalentes para os coinfectados por LV-HIV⁸.

Referências

¹Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLOS One. 2012;7(5):e35671.

²Organização Mundial da Saúde. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Genebra, 22 a 26 de março de 2010. [Internet]. Genebra: OMS; 2010. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>.

³Fernandez OL, Diaz-Toro Y, Ovalle C, Valderrama L, Muvdi S, Rodriguez I, et al. Miltefosine and antimonial drug susceptibility of Leishmania Viannia species and populations in regions of high transmission in Colombia. PLOS Neglect Trop Dis. 2014;8(5):e2871.

⁴Romero GAS, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in latin America - A systematic review. PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(1).

⁵González U, Pinart M, Rengifo-Pardo M, Macaya A, Alvar J, Tweed JA. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2009;(2).

⁶Amato VS, Tuon FF, Siqueira AM, Nicodemo AC, Neto VA. Treatment of mucosal leishmaniasis in Latin America: systematic review. Am J Trop Med Hyg 2007;77(2):266-74.

⁷Revez L, Maia-Elkhoury AN, Nicholls RS, Romero GA, Yadon ZE. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: a systematic review update. PLOS One. 2013;8(4): e61843.

⁸Directrices para el tratamiento de las leishmaniasis en la Región de las Américas. Washington, D.C.; 2022. Organización Panamericana de la Salud. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

⁹Organização Mundial da Saúde. OMS. Manual para la elaboración de directrices, 2.ª ed. Genebra: OMS; 2014. 179 [Internet]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254669>.

TABELA 1 - Recomendações para o tratamento da leishmaniose cutânea, mucosa ou mucocutânea nas Américas segundo a força da recomendação e da evidência.

Leishmaniose cutânea em pacientes adultos		Leishmaniose cutânea em pacientes pediátricos	
Recomendações	Força da recomendação e da evidência	Recomendações	Força da recomendação e da evidência
A aplicação intralesional de antimoniais pentavalentes é recomendada para pacientes com leishmaniose cutânea localizada causada por <i>L. braziliensis</i> e <i>L. amazonensis</i> .	Recomendação forte , evidência de certeza baixa	O uso de miltefosina é recomendado para pacientes pediátricos com diagnóstico de leishmaniose cutânea causada por <i>L. panamensis</i> , <i>L. guyanensis</i> e <i>L. braziliensis</i> .	Recomendação forte , evidência de certeza baixa
O uso de miltefosina é recomendado para pacientes adultos com diagnóstico de leishmaniose cutânea causada por <i>L. panamensis</i> , <i>L. mexicana</i> , <i>L. guyanensis</i> e <i>L. braziliensis</i> .	Recomendação forte , evidência de certeza baixa	O uso de paromomicina é sugerido para pacientes pediátricos com leishmaniose cutânea causada por <i>L. panamensis</i> , <i>L. braziliensis</i> e <i>L. mexicana</i> .	Recomendação condicional , evidência de certeza baixa
A administração de isetionato de pentamidina é sugerida para pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea causada por <i>L. guyanensis</i> .	Recomendação condicional , evidência de certeza baixa	O uso de antimoniais pentavalentes é sugerido para o tratamento de pacientes pediátricos com diagnóstico de leishmaniose cutânea quando não há outra alternativa.	Recomendação condicional , evidência de certeza baixa
A aplicação de termoterapia é sugerida para pacientes com leishmaniose cutânea localizada causada por <i>L. braziliensis</i> , <i>L. panamensis</i> e <i>L. mexicana</i> .	Recomendação condicional , evidência de certeza muito baixa		
O uso de paromomicina é sugerido para pacientes com leishmaniose cutânea causada por <i>L. panamensis</i> , <i>L. braziliensis</i> e <i>L. mexicana</i> .	Recomendação condicional , evidência de certeza muito baixa		
O uso de antimoniais pentavalentes é sugerido para pacientes adultos com diagnóstico de leishmaniose cutânea causada por <i>L. braziliensis</i> , <i>L. panamensis</i> , <i>L. amazonensis</i> , <i>L. peruviana</i> e <i>L. mexicana</i> .	Recomendação condicional , evidência de certeza moderada a baixa		

Leishmaniose mucosa/mucocutânea	
Recomendações	Força da recomendação e da evidência
O uso de antimoniais pentavalentes com ou sem pentoxifilina oral é recomendado para o tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa ou mucocutânea.	Recomendação forte , evidência de certeza baixa e muito baixa

Fonte: Directrices para el tratamiento de las leishmaniasis en la Región de las Américas. Washington, D.C.; 2022. Organização Pan-americana da Saúde Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://doi.org/10.37774/9789275325032>

TABELA 2 - Recomendações para o tratamento da leishmaniose visceral nas Américas segundo a força da recomendação e da evidência.

Leishmaniose visceral em pacientes imunocompetentes		Leishmaniose visceral em pacientes imunodeprimidos	
Recomendações	Força da recomendação e da evidência	Recomendações	Força da recomendação e da evidência
O uso de anfotericina B lipossomal é recomendado para o tratamento da leishmaniose visceral em pacientes pediátricos e adultos imunocompetentes.	Recomendação forte , evidência de certeza baixa	O uso de anfotericina B lipossomal é recomendado para o tratamento de pacientes imunodeprimidos com leishmaniose visceral.	Recomendação forte , evidência de certeza muito baixa
A administração de antimoniais pentavalentes ou outras formulações de anfotericina B é sugerida para o tratamento da leishmaniose visceral em pacientes pediátricos e adultos imunocompetentes.	Recomendação condicional , evidência de certeza baixa	O uso do complexo lipídico de anfotericina B ou de desoxicolato de anfotericina B é recomendado quando não houver disponibilidade de anfotericina B lipossomal para o tratamento de pacientes imunodeprimidos com leishmaniose visceral.	Recomendação forte , evidência de certeza muito baixa
O uso de miltefosina não é recomendado para o tratamento da leishmaniose visceral em pacientes pediátricos e adultos.	Recomendação contrária forte , evidência de certeza muito baixa	O uso de antimoniais pentavalentes não é recomendado para o tratamento de pacientes imunodeprimidos com leishmaniose visceral.	Recomendação contrária forte , evidência de certeza muito baixa

Profilaxia secundária da leishmaniose visceral em pacientes imunodeprimidos	
Recomendações	Força da recomendação e da evidência
Na profilaxia secundária em pacientes com leishmaniose visceral e infecção concomitante por HIV, a administração de anfotericina B lipossomal é recomendada após o primeiro episódio de leishmaniose visceral para todos os pacientes com contagem de linfócitos T CD4 inferior a 350 por mm ³ .	Recomendação forte , evidência de certeza muito baixa

Fonte: Directrices para el tratamiento de las leishmaniasis en la Región de las Américas. Washington, D.C.; 2022. Organização Pan-americana da Saúde Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://doi.org/10.37774/9789275325032>



Os Ministérios da Saúde, por meio das respectivas áreas técnicas e com o apoio de especialistas locais, deverão avaliar as recomendações nos contextos nacionais e verificar a possibilidade de incorporar, assegurar e ampliar o acesso dos pacientes ao tratamento com alternativas terapêuticas mais seguras e de menor duração. Para tanto, é preciso considerar os aspectos culturais relacionados à aceitação de novas modalidades terapêuticas, sua disponibilidade na região e os custos e condições operacionais, de modo a assegurar a distribuição e o uso eficiente.

Além disso, como estratégia de difusão das recomendações e visando fortalecer os conhecimentos específicos dos profissionais de saúde, a Organização Pan-americana da Saúde (OPAS) apresentará uma nova versão do Curso à

Distância em Leishmaniose nas Américas: Diagnóstico e Tratamento – LC/LM e LV, disponível gratuitamente no Campus Virtual de Saúde Pública.

Atualmente, o Fundo Estratégico (FE) da OPAS já incorporou todos os medicamentos recomendados para o tratamento das leishmanioses nas Américas, com exceção da paramomicina em creme, que não está disponível para comercialização. Para adquirir os medicamentos, o FE realiza um planejamento prévio anual com os países, verifica a adesão e consolida as quantidades necessárias para atender às demandas nacionais, o que leva à redução do custo e à disponibilidade para suprir as necessidades da região. Nos últimos dois anos, a OMS vem coordenando discussões com fornecedores no nível global para

assegurar preços subsidiados e quantidades suficientes para atender à demanda nos países endêmicos.

Apesar dos avanços feitos por vários países na incorporação e disponibilização de mais de uma opção de medicamentos, ainda há muito a fazer para que outras alternativas estejam disponíveis e descentralizadas. Além disso, há muitos desafios para a implementação destas recomendações, já que os gestores nacionais e subnacionais enfrentam uma escassez de recursos financeiros que impede a aquisição e sustentabilidade dos insumos necessários tanto para o diagnóstico quanto para o tratamento. Outros desafios incluem a incapacidade ou o longo tempo para produção, bem como atrasos na distribuição dos medicamentos, uma vez que a maioria dos fornecedores é exclusiva. •



ESTUDO PROSPECTIVO DE AVALIAÇÃO DE INTERVENÇÕES LOCAIS PARA O TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NÃO COMPLICADA

ANA NILCE SILVEIRA MAIA-ELKHOURY, SAMANTHA YURI OSHIRO VALADAS-ROCHA, Doenças Transmissíveis e Determinantes Ambientais da Saúde (CDE-VT), Organização Pan-americana da Saúde (OPAS/OMS), Brasil

JOELLE RODE, DNDi

ELISA CUPOLILLO, LILIAN MOTTA CANTANHÊDE, Laboratório de Pesquisa em Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil



O uso intralesional de antimoniais (AM-IL) e a termoterapia (TT) têm sido opções muito exploradas no tratamento da leishmaniose cutânea (LC). São recomendadas pela OMS e indicadas regionalmente pela OPAS desde 2013 como alternativa terapêutica em situações especiais. As novas diretrizes para o tratamento das leishmanioses nas Américas, publicadas pela OPAS/OMS em 2022¹, consolidam e ampliam o uso de intervenções locais, trazendo uma recomendação forte para o tratamento com AM-IL e uma recomendação condicional para a TT para os pacientes com LC localizada, apresentando no máximo três lesões de até 3 cm de diâmetro.

Com eficácia similar à dos antimoniais sistêmicos, as terapias localizadas são vantajosas devido ao melhor perfil de segurança e à utilização mais fácil no nível da atenção primária e em áreas remotas, além de terem mostrado ser custo-efetivas. Alguns dos países da região já incluem os tratamentos locais nos guias terapêuticos, enquanto outros estão revisando os guias para incluí-los ou começaram a usá-los no dia a dia dos serviços de saúde.

Neste contexto, a OPAS, em colaboração com os Ministérios/Secretarias de Saúde dos respectivos países, a DNDi e a Fiocruz-IOC, está propondo realizar um estudo prospectivo de coorte para avaliar a resposta clínica e a tolerabilidade

de dos tratamentos com TT ou AM-IL no México, Panamá e Costa Rica.

O estudo será realizado em alguns serviços de atenção a LC nestes países a serem identificados pelos respectivos Ministérios da Saúde e incluirá, por um período de 12 meses, pacientes com idade ≥ 12 anos que cumpram os critérios de elegibilidade definidos no protocolo e tenham dado seu consentimento informado por escrito.

Será oferecido aos participantes um tratamento com AM-IL (cinco aplicações com intervalo médio de cinco dias) ou TT (uma única sessão), levando-se em conta os protocolos de cada serviço de saúde, a disponibilidade local das intervenções e as condições mais favoráveis aos participantes. O acompanhamento será feito por até seis meses depois do início do tratamento, de acordo com a rotina de acompanhamento dos serviços. A

resposta clínica será avaliada três meses após o início do tratamento, com base na porcentagem de reepitelização/aplanamento das lesões, conforme metodologia descrita em Olliaro *et al.*, 2013².

O Laboratório de Pesquisas em Leishmaniose do Instituto Oswaldo Cruz realizará a identificação da espécie de *Leishmania*, a quantificação da carga parasitária nas lesões antes do tratamento e nos períodos de avaliação (3 e 6 meses) no caso de lesões ainda ativas, e a detecção de *Leishmania* RNA Vírus por meio da PCR.

Com este projeto, espera-se contribuir para um melhor manejo dos pacientes afetados pela LC, expandir a adoção de terapias locais para a LC não complicada na rotina dos serviços e contribuir para a diminuição da morbimortalidade da doença e dos custos para os serviços de saúde pública destes países. •



¹Directrices para el tratamiento de las leishmaniasis en la Región de las Américas. Washington, D.C.; 2022. Organización Pan-americana da Saúde Licença CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://doi.org/10.37774/9789275325032>

²Olliaro P, Vaillant M, Arana B, Grogl M, Modabber F, Magill A, et al. Methodology of Clinical Trials Aimed at Assessing Interventions for Cutaneous Leishmaniasis. Ozcel MA, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2013 Mar 21;7(3):e2130



TRATAMENTOS LOCAIS PARA A LEISHMANIOSE CUTÂNEA NA ETIÓPIA: DA PESQUISA AO ACESSO

ENDALAMAW GADISA, Armauer Hansen Research Institute, Adís Abeba, Etiópia

JAVIER MORENO, ISC III, Madri, Espanha

MARINA BONI, DNDi



L. tropica e *L. major* são as espécies predominantes que causam a leishmaniose cutânea (LC) no Velho Mundo, mas há uma espécie encontrada apenas na Etiópia, *L. aethiopica*. Estima-se que a carga de LC na Etiópia seja de 20.000 a 40.000 novos casos todos os anos¹, afetando de maneira desproporcional crianças, adolescentes e jovens adultos. Mais de 30 milhões de etíopes vivem em risco de contrair LC. As manifestações clínicas de LC causada por *L. aethiopica* são especialmente pleiotrópicas; a forma localizada da doença (LCL) é a manifestação mais frequente, ocorrendo em 85% dos casos² e apresentando em sua maioria uma única lesão no rosto. Entre as outras formas da doença estão a cutânea difusa e a mucosa. Na Etiópia, a LCL impõe um pesado fardo psicológico e econômico às comunidades afetadas, pois se manifesta predominantemente em partes do corpo significativas do ponto de vista estético em segmentos da sociedade socioeconomicamente ativos e/ou em crianças em idade escolar.

Entre as opções de tratamento local estão a crioterapia, a injeção intralésional de estibogluconato de sódio (IL-SSG) e a termoterapia (TT), todas recomendadas pela Organização Mundial da Saúde e amplamente usadas no tratamento da LC não complicada. Na Etiópia, o tratamento padrão é a IL-SSG, administrada semanalmente por um período de até seis semanas. As diretrizes de tratamento nacionais da Etiópia também incluem crioterapia e TT.

No entanto, não há evidências robustas que deem suporte à recomendação de uso destas intervenções locais no tratamento da *L. aethiopica*. Devido à falta de evidências locais, principalmente em relação ao uso da TT, o Armauer Hansen Research Institute (AHRI), em parceria com a DNDi e o Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), de Madri, na Espanha, em coordenação com o Programa Nacional de Controle da Leishmaniose do Ministério da Saúde da Etiópia, conduzirá um ensaio clínico integrado de Fase II/III, aberto, multicêntrico e randomizado para avaliar a segurança e eficácia do uso da TT em comparação com IL-SSG em casos de LCL não complicada em quatro centros na Etiópia. Este estudo é parte do financiamento EDCTP RIA2020S “*African Leishmaniasis: from Clinical Research to Access*” (“Leishmaniasis africana: da pesquisa clínica ao acesso”, *LeishAccess Consortium*; RIA2020S-3301”).

Serão recrutados no estudo um total de 326 homens e mulheres com idades entre ≥18 e ≤60 anos que cumpram os critérios de elegibilidade definidos no protocolo e tenham assinado o formulário de consentimento informado. Os participantes serão randomizados para receber:

- IL-SSG: 4 injeções intralésionais semanais nos dias 1, 7, 14 e 21. Os participantes que apresentem menos de 50% de reepitelização ou aplanamento da(s) lesão(ões) no dia 28 receberão duas doses semanais adicionais de IL-SSG.

- Termoterapia: uma sessão, aplicações de 30 segundos a 50° C.

A cura inicial (no dia 90), a resposta tardia (no dia 105) e a cura final (no dia 180) serão avaliados com base no percentual de reepitelização da(s) úlcera(s) (para as lesões ulceradas) ou de aplanamento e/ou ausência de sinais de induração da(s) lesão(s) (para lesões não ulceradas), comparadas ao dia 1.

Como objetivos secundários, o estudo realizará uma caracterização molecular e análise filogenética em isolados de *Leishmania*, a serem realizadas pelo ISCIII, e avaliará a qualidade de vida e as cicatrizes da LC com base respectivamente no questionário do *Dermatology Life Quality Index* (“Índice de qualidade de vida em dermatologia”) e na *Vancouver Scar Scale* (“Escala de cicatrização de Vancouver”), combinados com a *Patient and Observer Scar Assessment Scale* (“Escala de avalia o de cicatrizes de pacientes e observadores”). O objetivo final   fornecer evidências ao Ministério da Saúde sobre a segurança e eficácia da TT para o tratamento da LC causada por *L. aethiopica* e, se os resultados forem positivos, promover sua ado o na rotina de tratamento.

O estudo já foi aprovado pelos Comit s de  tica da AHRI, e do ISCIII e pelo Comit  de  tica Nacional. O recrutamento deve começar no terceiro trimestre de 2022. •

Referências

- ¹Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, den Boer M: Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS one* 2012, 7(5):e35671.
- ²Lemma A, Foster WA, Gemetchu T, Preston PM, Bryceson A, Minter DM: Studies on leishmaniasis in Ethiopia. I. Preliminary investigations into the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the highlands. *Annals of tropical medicine and parasitology* 1969, 63(4):455-472.



PRIMEIRO ESTUDO EM HUMANOS DO CPG ODN D35, UM AGONISTA DO RECEPTOR DO TIPO TOLL 9, DEMONSTRA SUA SEGURANÇA E EFEITOS IMUNOLÓGICOS EM VOLUNTÁRIOS SADIOS

BYRON ARANA, DNDi



Os receptores do tipo Toll (TLR), que reconhecem componentes microbiais conservados, ativam as células do sistema imunológico inato para limitar a dissemina o precoce de patógenos e promover o desenvolvimento de imunidade específica a determinados antígenos. O CpG ODN D35   um CpG ODN de classe A agonista de TLR9 desenvolvido especificamente para melhorar o tratamento da leishmaniose cutânea (LC). Ele   uma molécula de DNA sint tica curta de cadeia única que cont m sequências de dinucle t deos de citosina-guanina (CG) não metilados que podem ser detectados pelo TLR9 em células dendríticas plasmocitóides (CDp) em humanos. Em modelos animais, ele estimula a maturaq o e ativa o de CDps e a produ o de citocinas pró-inflamatórias, como a *IFN- * e a *IFN- *, necessárias no controle da infec o por *Leishmania*. O CpG ODN D35 tem pouco ou nenhum efeito nas células B e não pro-

move respostas de tipo Th2 associadas a outras classes de CpG ODN.

Um primeiro ensaio clínico de Fase 1 em humanos investigou a segurança, farmacocinética e efeitos imunológicos de uma dose única ascendente de CpG ODN D35 administrada por via subcutânea em participantes masculinos sadios com idade entre 18 e 50 anos. O estudo incluiu 3 coortes (de 7,5 mg, 22,5 mg e 67,6 mg) com 8 participantes masculinos randomizados para receber uma dose única de CpG ODN D35 (6 participantes) ou de placebo (2 participantes).

De modo geral, o CpG ODN D35 foi bem tolerado e seguro e apresentou um número limitado de reações no local da inje o, principalmente vermelhidão e dor leve, classificadas de leves a moderadas e todas autolimitadas. Observou-se um padrão consistente de alterações hematológicas de forma dose-dependente (diminui o da contagem de leucócitos

entre o 4  e o 7  dia, leve diminui o dos neutr f los e diminui o moderada dos basófilos entre o 4  e o 7  dia, diminui o dos linfócitos no 2  dia, leve aumento de monócitos no 4  dia), todas temporárias e não clinicamente significativas. Observou-se também um aumento das concentrações de CXCL10 no plasma de forma dose-dependente, sem aumento nos valores de TNF  ou IL-6.

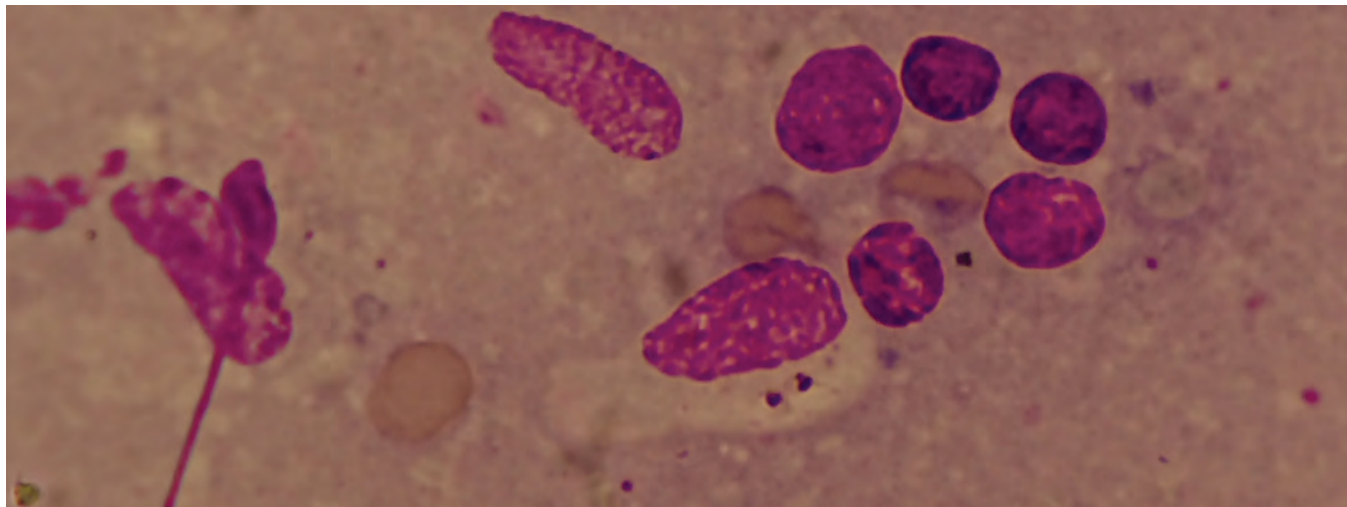
Em vista dos bons resultados deste primeiro estudo em voluntários sadios, um estudo de dose múltipla ascendente está sendo planejado em pacientes do Novo Mundo com lesões de LC. Será um ensaio de Fase 1b, unicêntrico, randomizado e aberto para avaliar doses múltiplas ascendentes de CpG ODN D35 administradas por via subcutânea em pacientes homens e mulheres de 18 a 50 anos de idade e com leishmaniose cutânea não complicada. O estudo deve ter início no quarto trimestre de 2022. •





PANORAMA ATUAL E PERSPECTIVAS NO DESENVOLVIMENTO DE TESTES DIAGNÓSTICOS PARA LEISHMANIOSE CUTÂNEA

GLÁUCIA COTA, DANIEL AVELAR e MARIANA FREIRE,
Instituto René Rachou – Fiocruz Minas, Brasil



O diagnóstico laboratorial permanece um dos grandes desafios para o controle da leishmaniose cutânea e mucosa, doenças ainda prevalentes em países tropicais de vários continentes, com amplo espectro de manifestação clínica e tratamento potencialmente tóxico. Os métodos parasitológicos baseados na detecção direta das formas amastigotas ou na cultura das formas promastigotas, embora altamente específicos, apresentam limitada sensibilidade. Já os métodos moleculares tradicionais são reconhecidos pela alta acurácia, mas também pela complexidade e alto custo, fatores que dificultam seu uso. Outro fator limitante do diagnóstico é a coleta de amostras biológicas por procedimento invasivo, tal como biópsia e aspirado subcutâneo da lesão, que requerem profissionais especializados, além de acarretarem para o paciente o risco potencial de sangramento, infecção e dor. Em função destes entraves, o desenvolvimento de técnicas de simples realização, alto desempenho e que possam ser realizadas a partir de amostras coletadas de forma minimamente invasiva é compreendido como a prioridade em leishmaniose com comprometimento cutâneo e mucoso, como estratégia para conferir acesso ao diagnóstico e abreviar

o tempo até o tratamento, minimizando riscos e morbidade para os pacientes.

Para nortear o desenvolvimento de estratégias diagnósticas que possam ser utilizadas em todos os níveis do sistema de saúde, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs um conjunto de parâmetros mínimos necessários para o teste ideal, com foco em acessibilidade, alto desempenho, simplicidade de uso e rapidez do resultado (Mabey *et al.*, 2004). Critérios adicionais referentes à conectividade em tempo real e facilidade de coleta de amostras foram posteriormente incorporados, compondo o acrônimo REASSURED (Land *et al.*, 2019). Por sua vez, a Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) propôs recentemente, a partir de uma discussão com especialistas, o “*product target profile*” para um teste diagnóstico “*point-of-care*” para leishmaniose dérmica, tendo definido o mínimo de 95% de sensibilidade e 90% para especificidade (Cruz *et al.*, 2019).

A busca de um teste que reúna propriedades mínimas pode alavancar mudanças significativas no estado atual da abordagem da doença, mas deve requerer investimento substancial, material e

humano, para a identificação e validação de novas ferramentas diagnósticas. No estágio atual das evidências, métodos baseados na amplificação isotérmica de DNA ou ainda métodos imunológicos rápidos, associados a coletas minimamente invasivas, despontam como as estratégias mais promissoras em direção ao diagnóstico ideal. A coleta de espécimes clínicos de forma minimamente invasiva, seja através de *swab*, escova citológica ou papel filtro, tem se consolidado como alternativa viável em substituição à biópsia de lesão. Há indícios de que a concentração de *Leishmania* pode ser inclusive mais elevada quando obtida por estas técnicas, em comparação com as técnicas invasivas convencionais (Suárez *et al.*, 2015; Sevilha-Santos *et al.*, 2019), o que pode estar relacionado à maior carga parasitária nas camadas superiores da derme e à maior representatividade do material coletado, em função de uma maior extensão da lesão abarcada na coleta. Destacam-se como vantagens a possibilidade de realização do diagnóstico em áreas remotas, com infraestrutura mínima, e a execução por profissionais de nível médio com algum treinamento, o menor risco de complicação para os pacientes e possivelmente um custo menor. Desempenho satisfat

tório tem sido obtido quando abordagens minimamente invasivas são associadas a técnicas moleculares utilizando alvos específicos para o diagnóstico da leishmaniose (Daoui *et al.*, 2020). Através da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando como alvo kDNA, amostras obtidas por *swab* e biópsia têm apresentado sensibilidade semelhante para o diagnóstico de pacientes com a forma cutânea ou mucosa – próxima a 93% (Faria *et al.*, 2022; Boni *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2017).

Entre as técnicas de amplificação isotérmica, o LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*) é a mais difundida, com vantagens que vão além da alta especificidade, garantida pelo conjunto de *primers* utilizados, mas também relacionadas à acessibilidade e simplicidade de execução e leitura através da visualização dos subprodutos da reação. Dados recentemente reunidos em revisão sistemática da literatura revelam uma sensibilidade entre 80 e 99% e especificidade entre 91 e 98% (Erber *et al.*, 2022). Embora métodos moleculares de amplificação iso

térmica não preencham todas as exigências para um verdadeiro teste diagnóstico “*point-of-care*” em função da etapa de extração de DNA, a simplicidade de execução e a limitada infraestrutura necessária tornam viável sua implementação mesmo em locais desprovidos de recursos. Estudos multicêntricos avaliando LAMP em condições reais de uso e com diferentes alvos precisam agora ser fomentados em busca de padronização.

Técnicas imunológicas em diferentes plataformas acopladas a um sistema de leitura rápida também figuram como importantes candidatos a um teste “*point-of-care*”, em especial aqueles baseados na detecção de antígenos espécie-específicos, com resultados iniciais promissores (Freire *et al.*, 2021). Um dos poucos testes comerciais disponíveis para o diagnóstico da forma cutânea é o CL Detect™ (InBios International Inc., Seattle, WA, EUA), teste imunocromatográfico rápido que detecta antígeno de *Leishmania* a partir de amostra obtida por biópsia ou escova citológica de lesão ulcerada com até quatro meses de evo

lução. Estudos de validação demonstram desempenho superior a 60% em regiões com predomínio de *L. major* ou *L. tropica* (Bennis *et al.*, 2018; Vink *et al.*, 2018). Entretanto, para outras regiões endêmicas, tem sido descrita uma sensibilidade bem mais baixa, em torno de 30%, (De Silva *et al.*, 2017; Schallig *et al.*, 2019; van Henten *et al.*, 2022).

Em síntese, apesar de dados iniciais promissores e algumas definições de desempenho já consensuadas como necessárias, é inegável o longo caminho a percorrer em direção ao teste ideal, especialmente para uma doença com distribuição mundial e tamanha diversidade de espécies e manifestações. O desenvolvimento e validação de novas ferramentas diagnósticas orientadas pelos objetivos agora definidos deve ser considerado a prioridade atual em pesquisa na leishmaniose. A adesão da comunidade científica e dos agentes financiadores de pesquisa a uma agenda estratégica comum é indispensável para a efetiva transformação do cenário diagnóstico da leishmaniose com acometimento dérmico. •

Referências

- BENNIS, Issam *et al.* Accuracy of a rapid diagnostic test based on antigen detection for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in patients with suggestive skin lesions in Morocco. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 99, n. 3, p. 716, 2018.
- BONI, Sara Macente *et al.* Efficiency of noninvasive sampling methods (swab) together with Polymerase Chain Reaction (PCR) for diagnosing American Tegumentary Leishmaniasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 59, 2017.
- CRUZ, Israel *et al.* Target Product Profile for a point-of-care diagnostic test for dermal leishmaniases. *Parasite Epidemiology and Control*, v. 5, p. e00103, 2019.
- DE FARIA, Verônica Cardoso Santos *et al.* Impact assessment of different DNA extraction methods for non-invasive molecular diagnosis of tegumentary leishmaniasis. *Acta Tropica*, v. 227, p. 106275, 2022.
- DE SILVA, Gayani *et al.* Efficacy of a new rapid diagnostic test kit to diagnose Sri Lankan cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania donovani*. *PLoS One*, v. 12, n. 11, p. e0187024, 2017.
- ERBER, Astrid Christine *et al.* Diagnosis of visceral and cutaneous leishmaniasis using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) protocols: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2022.
- FREIRE, Mariana Lourenço *et al.* Potential antigenic targets used in immunological tests for diagnosis of tegumentary leishmaniasis: A systematic review. *PLoS one*, v. 16, n. 5, p. e0251956, 2021.
- GOMES, Ciro Martins *et al.* Field validation of SYBR green-and TaqMan-based real-time PCR using biopsy and swab samples to diagnose american tegumentary leishmaniasis in an area where *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* is endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 55, n. 2, p. 526-534, 2017.
- LAND, Kevin J. *et al.* REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes. *Nature Microbiology*, v. 4, n. 1, p. 46-54, 2019.
- MABEY, David *et al.* Diagnostics for the developing world. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, n. 3, p. 231-240, 2004.
- SCHALLIG, Henk DFH *et al.* Evaluation of point of care tests for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Suriname. *BMC Infectious Diseases*, v. 19, n. 1, p. 1-6, 2019.
- SEVILHA-SANTOS, L. *et al.* Accuracy of qPCR for quantifying *Leishmania* kDNA in different skin layers of patients with American tegumentary leishmaniasis. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 25, n. 2, p. 242-247, 2019.
- SUÁREZ, Milagros *et al.* Quantification of *Leishmania* (Viannia) kinetoplast DNA in ulcers of cutaneous leishmaniasis reveals inter-site and inter-sampling variability in parasite load. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 9, n. 7, p. e0003936, 2015.
- VAN HENTEN, Saskia *et al.* Evaluation of the CL Detect Rapid Test in Ethiopian patients suspected for Cutaneous Leishmaniasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 16, n. 1, p. e0010143, 2022.
- VINK, Martijn MT *et al.* Evaluation of point-of-care tests for cutaneous leishmaniasis diagnosis in Kabul, Afghanistan. *EBioMedicine*, v. 37, p. 453-460, 2018.





TRATAMENTOS PEDIÁTRICOS: UMA NECESSIDADE DESATENDIDA

LLANOS-CUENTAS ALEJANDRO, Unidad de Leishmaniasis y Malaria, Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia

VALENCIA BRAULIO MARK, Viral and Immunology System Program, Kirby Institute, The University of New South Wales



A leishmaniose tegumentar (LT), é uma doença causada por parasitas do gênero *Leishmania* e transmitida por vetores. Ela tem um comportamento clínico pleomórfico, variando de formas que se autolimitam a manifestações crônicas e severas, tanto cutâneas quanto mucosas. A complexidade da LT em humanos depende (i) da diversidade da resposta imunológica, que é influenciada por fatores genéticos e adquiridos; (ii) da espécie de *Leishmania* infectante (mais de 18 espécies afetam humanos), que estimula ou evita a imunidade do hospedeiro; e (iii) de condições ambientais que afetam a exposição das pessoas ao agente patogênico, mas também modulam sua resposta imunológica.

O espectro das manifestações clínicas também é afetado por outros fatores, como condições imunossupressoras congênitas ou adquiridas, a idade em que se dá a infecção ou a coexistência de comorbidades transmissíveis e não transmissíveis. Sabe-se que a idade afeta múltiplos aspectos, incluindo as manifes-

tações clínicas, a resposta terapêutica e o risco de progressão para a leishmaniose mucocutânea (LM). Em diversas infecções, tem sido evidenciado que bebês ou crianças em idade pré-escolar têm maior propensão a desenvolver formas graves, possivelmente em razão da imaturidade do sistema imunológico inato e adaptativo, o qual adquire memória e se fortalece com o passar dos anos e, por fim, entra em declínio na velhice. A senescência imunológica, que afeta os níveis de IL-2 e IFN- γ , as contagens de linfócitos T e B, e o acúmulo excessivo de células T regulatórias, poderia ser extrapolada para compreender os mecanismos imunológicos que ocorrem no outro extremo etário. No entanto, a falta de verificação destas suposições demonstra o quanto o conhecimento da patobiologia da LT na população pediátrica é limitado.

A falha terapêutica dos antimoniais pentavalentes (Sb⁵⁺) na população pediátrica varia entre 40% e 70%, sendo que o risco de falha é três vezes maior

no grupo de pacientes abaixo dos 5 anos de idade. A miltefosina se mostrou uma alternativa eficaz para o uso infantil, apesar das sérias limitações na acessibilidade causadas pelo preço alto e a falta de formulações pediátricas. O desoxicolato de anfotericina e outras formulações são usados como terapia de segunda linha, com uma limitação adicional devido à necessidade de longos períodos de hospitalização para uma administração segura, embora os efeitos adversos em crianças sejam menos graves e frequentes (50% a 70% menos) do que os reportados em adultos. Há evidências de que a diferença na resposta terapêutica entre adultos e crianças se deve a uma menor biodisponibilidade do Sb⁵⁺ e da miltefosina em consequência do metabolismo farmacológico mais acelerado na população pediátrica. Esta exposição insuficiente poderia ser revertida com esquemas de administração alométrica dos fármacos (de acordo com peso e altura, assim como da situação nutricional).

Considerando-se que mais de 50% dos pacientes afetados pela LT nas áreas endêmicas são crianças, é necessário priorizar diversos aspectos do diagnóstico e manejo da população pediátrica. Como é possível ver a partir dos aspectos terapêuticos, a escassez de estudos clínicos neste grupo etário é explicada por diversas razões: (i) as crianças são um grupo protegido em estudos clínicos por um excesso de zelo da regulamentação ética, que paradoxalmente limita a exploração de alternativas diagnósticas e terapêuticas para este grupo; (ii) a falta de apoio da indústria farmacêutica e das instituições financiadoras para a pesquisa em leishmaniose; e (iii) a condição negligenciada da leishmaniose, cuja endemicidade fica circunscrita a populações de baixa renda e com pouco acesso aos serviços de saúde. •

PAROMOMICINA GEL PARA O TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA: OS DESAFIOS DO DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO FARMACÊUTICO POR INSTITUIÇÕES PÚBLICAS BRASILEIRAS

ANA RABELLO, Instituto René Rachou/Fiocruz

JORGE COSTA, Vice-Presidência de Produção e Inovação em Saúde/Fiocruz



O esforço para o desenvolvimento da paromomicina gel fundamenta-se na necessidade premente de oferecer tratamento seguro, confortável e eficaz às quase 40.000 mil pessoas que a cada ano adoecem com leishmaniose cutânea nas Américas (OPAS, 2021). Embora uma formulação de paromomicina em creme para tratamento tópico para a leishmaniose cutânea, desenvolvido pelo Walter Reed National Military Medical Center, dos Estados Unidos da América, tenha obtido bons resultados em um estudo clínico de fase III (Sosa *et al.* 2019), o produto não está disponível para as populações afetadas pela doença nas Américas.

O desenvolvimento da formulação em gel do sulfato de paromomicina teve início nos anos 2000, na Faculdade de Farmácia da UFMG. Diante dos resultados de estudos experimentais (Gonçalves *et al.*, 2005), a Fiocruz e a UFMG começaram os trâmites para a assinatura de um contrato de fornecimento de tecnologia para a produção industrial desta formulação por Farmanguinhos/Fiocruz, com participação das unidades de gestão tecnológica CTIT/UFMG e GESTEC e do Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para a Saúde – PDTIS/Fiocruz. A harmonização dos entendimentos jurídicos das Procuradorias Federais da UFMG e Fiocruz, particu-

larmente no tocante à cláusula de comercialização, caracterizou o primeiro desafio da jornada do desenvolvimento. Após seis anos de discussão, a solução encontrada foi incluir este tema no momento oportuno de uma possível parceria com a iniciativa privada.

O segundo grande desafio foi de ordem técnica. A formulação em gel da paromomicina tem característica hidrofílica, o que lhe garante maior permeação cutânea, mas, por outro lado, lhe confere menor estabilidade físico-química. Como consequência, foi necessária a dedicação da equipe de P&D de Farmanguinhos/Fiocruz, que desenvolveu oito novas apresentações, todas avaliadas nos modelos animais do IRR/Fiocruz. Adicionalmente foi necessário o desenvolvimento e validação de metodologia analítica para acompanhar o estudo de estabilidade das formulações propostas. Todo este esforço se traduziu em investimento, estudos, erros e acertos, por cerca de dois anos.

Paralelamente, ensaios biológicos *in vivo* foram realizados para a avaliação das formulações alternativas e melhores combinações entre a formulação de paromomicina gel tópico e o menos agressivo tratamento sistêmico. Por critérios de estabilidade, segurança e eficácia pré-clínica, o produto-teste selecionado foi a formulação extemporânea da paromomicina a 10%, em gel. Ou seja, os componentes sólidos da paromomicina gel são acondicionados em sachês e o gel é reconstituído em água no momento da entrega ao paciente.

A análise da atividade biológica em hamsters infectados com *Leishmania*





Viania brasiliensis de um lote experimental da paromomicina gel demonstrou maior eficácia clínica quando o medicamento, aplicado duas vezes ao dia durante 30 dias, foi combinado com a infiltração intralesional única de antimonio de meglumina no primeiro dia de tratamento. O esquema combinado levou à redução de 100% do tamanho das lesões, percentual significativamente maior do que o observado nos grupos tratados em monoterapia (Alves L. L., 2018).

Por causa da alteração na apresentação do produto, surge o terceiro grande desafio. Farmanguinhos tem área certificada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA para produção de semissólidos, mas não para produção do gel extemporâneo. Após ampla prospecção de indústrias farmacêuticas para terceirização da produção dos lotes piloto, o laboratório farmacêutico Eurofarma demonstrou interesse em colaborar com a Fiocruz. Dadas as exigências jurídicas, a Eurofarma precisou atender a um Chamamento Público e novamente a um Edital da Fundação de Apoio a Pesquisa da Fiocruz – Fiotec, executora dos recursos do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social – BNDES e do Programa Inova da Fiocruz. Nesta data, aguarda-se a assinatura do contrato de prestação de serviços, quando então Farmanguinhos coordenará os procedimentos de produção dos lotes-piloto e de atendimento a todos os requerimentos regulatórios.

O quarto grande desafio é o financiamento. Aqui há que se ressaltar a importância das instituições fortes do Estado, alinhadas e independentes. Trata-se de um produto financiado por investimento público. Em 2016, parte das despe-

sas financeiras de desenvolvimento da formulação e recursos para a realização do ensaio clínico foram assegurados por um longo processo de seleção pelo Programa FUNTEC, do BNDES, com recomendação do Ministério da Saúde (Contrato de Concessão de Colaboração Financeira Não Reembolsável No. 15.2.0473.1). Uma característica deste tipo de concessão é a exigência de contrapartida financeira de, no mínimo, 10%. Estes viriam de Farmanguinhos, que enfrentou uma acentuada restrição financeira nos anos seguintes. A Presidência da Fiocruz, por meio de recursos diretos e com recursos do Programa Inova, supriu os valores contratuais. Há contínuo investimento direto de Farmanguinhos e do IRR/Fiocruz em insumos, equipamentos e pessoal.

O quinto grande desafio trata da disponibilidade do Insumo Farmacêutico Ativo – IFA. No melhor dos nossos esforços, identificamos apenas um fornecedor de paromomicina com certificado de produção em boas práticas de manufatura: a empresa Olon, da Itália. Nestes anos de projeto, com a alta do Euro ocorrida em 2020/2021, o custo do IFA duplicou e foi necessário o provimento de recursos adicionais e mais alguns meses de prorrogação do projeto, também devido ao atraso na produção causado pela pandemia de COVID-19.

Uma vez definida a formulação, as equipes clínicas do IRR/Fiocruz e da Plataforma de Pesquisa Clínica/Fiocruz definiram o Estudo multicêntrico de fase III, aberto, randomizado e controlado, para avaliação de não inferioridade de eficácia e segurança da formulação em gel extemporâneo de paromomicina para uso tópico em pacientes adultos e

adolescentes portadores de leishmaniose cutânea. Braço 1: paromomicina gel 10%, uso tópico, duas vezes ao dia, durante 30 dias, em combinação com aplicação única de infiltração intralesional de antimonio de meglumina no primeiro dia de tratamento. Braço 2: três infiltrações por via intralesional de antimonio de meglumina com intervalo de 15 dias (tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde). O estudo será realizado em três centros de pesquisa: IRR/Fiocruz, Hospital Presidente Vargas – São Luís do Maranhão e Hospital Universitário Clemente de Faria – Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). O projeto foi aprovado pelo Sistema CONEP – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde, CAAE: 35331720.8.0000.5091, e registrado na Plataforma de Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – REBEC: RBR-4ypn69.

Em dezembro de 2020, Farmanguinhos submeteu o peticionamento eletrônico para anuência do Dossiê de Desenvolvimento Clínico de Medicamento – DDCM à ANVISA. Foram solicitados dois pedidos de esclarecimentos e informações adicionais, respondidos em tempo. Não há ainda resposta definitiva da Agência. A complexidade dos formulários e os prazos de resposta da ANVISA são o sexto grande desafio.

A trajetória do desenvolvimento da paromomicina gel para o tratamento tópico da leishmaniose cutânea é pavimentada por instituições públicas nacionais que representam as forças e as fraquezas de um país em busca de autonomia e soberania para seu Complexo Industrial da Saúde. •

Referências

- Alves, L.L. Eficácia pré-clínica do tratamento tópico da leishmaniose cutânea com gel hidrofílico de paromomicina em combinação com leishmanicidas de uso sistêmico e local. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Instituto René Rachou. Minas Gerais, 2018
- Gonçalves, G. S. *et al.* Activity of a paromomycin hydrophilic formulation for topical treatment of infections by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (Viannia) brasiliensis*. *Acta Trop.*, v. 93, n. 2, p. 161-167, 2005
- Organização Pan Americana da Saúde. Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas [Internet]. Núm. 10, dezembro de 2021. Washington, D.C.: OPS; 2021. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55386>
- Sosa N, Pascale JM, Jiménez AI, *et al.* Topical paromomycin for New World cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(5):e0007253. Published 2019 May 2. doi:10.1371/journal.pntd.0007253

A CONSTRUÇÃO DE UMA TRAJETÓRIA DE DESENVOLVIMENTO TRANSLACIONAL DE MEDICAMENTOS DE USO ORAL PARA A LEISHMANIOSE CUTÂNEA

JADEL MÜLLER KRATZ, Gerente sênior de descoberta de fármacos – DNDi



A leishmaniose cutânea (LC) é uma doença negligenciada que necessita urgentemente de novos medicamentos orais que sejam seguros e eficazes. Há mais de 15 anos a DNDi se dedica ativamente à P&D em leishmaniose e, junto com vários parceiros, desenvolveu um portfólio sem precedentes de séries em estágio avançado de desenvolvimento e candidatos clínicos e pré-clínicos provenientes de diferentes classes químicas, com distintos mecanismos de ação contra os parasitas *Leishmania*.

Este portfólio de novas entidades químicas (NEQ) promissoras está atualmente sendo desenvolvido para a leishmaniose visceral (LV) com o objetivo de identificar monoterapia(s) de curta duração e/ou tratamentos de combinação. A estratégia do programa de LC da DNDi é alavancar este valioso portfólio, expandindo seu desenvolvimento no sentido de identificar simultaneamente novos tratamentos orais para a LC e possíveis combinações com imunomoduladores. Este objetivo se apoia em dados existentes e pesquisas em andamento que demonstram de forma clara que estes candidatos podem ser “reposicionados” para a LC. Os dados incluem perfis *in vitro* robustos contra um painel de cepas causadoras de LC, estudos de prova de conceito *in vivo* com modelos animais e o potencial de distribuição cutânea obtido para algumas das NEQs^{1,2}.

Referências

- ¹Wijnant GJ, Croft SL, de la Flor R, Alavijeh M, Yardley V, Braillard S, Mowbray C, Van Bocxlaer K. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Nitroimidazole DNDI-0690 in Mouse Models of Cutaneous Leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Aug 23;63(9):e00829-19. doi: 10.1128/AAC.00829-19.
- ²Van Bocxlaer K, Caridha D, Black C, Vesely B, Leed S, Sciotti RJ, Wijnant GJ, Yardley V, Braillard S, Mowbray CE, Ioset JR, Croft SL. Novel benzoxaborole, nitroimidazole and aminopyrazoles with activity against experimental cutaneous leishmaniasis. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2019 Dec;11:129-138. doi: 10.1016/j.ijpddr.2019.02.002.



DNDi

- Gerenciamento do projeto
- Descoberta e desenvolvimento de fármacos
- Expertise em leishmaniose cutânea

University of York

- Modelo de eficácia em camundongos com LC infectados por *L. major* bioluminescentes
- PK e distribuição de fármacos na pele
- Concentração de fármacos livres em tempo real através de microdiálise

Netherlands Cancer Institute

- Bioanálise
- Farmacologia translacional e quantitativa
- Modelagem e simulação de PKPD
- Modelos PKPD farmacocinéticos de base fisiológica

Universidade Federal do Rio de Janeiro

- Biologia parasitária
- Transfecção de *Leishmania in vitro*
- Modelo de eficácia em camundongos com LC infectados por *L. braziliensis* bioluminescentes

Imabiotech

- PK e distribuição de fármacos na pele
- Plataforma de imageamento quantitativo por espectrometria de massa
- Quantificação espacial de fármacos



Todavia, a pesquisa translacional em LC é notoriamente difícil e há muitas lacunas que impedem o desenvolvimento clínico futuro de candidatos a medicamentos para esta doença, como (i) a necessidade de compreender e prever melhor como medicamentos de uso oral se distribuem na pele e interagem com os parasitas *Leishmania* presentes nestes tecidos e (ii) a falta de modelos animais robustos e padronizados que mimetizem a infecção cutânea causada por algumas das espécies mais relevantes de *Leishmania*, como a *L. braziliensis*.

Para abordar essas questões importantes e estabelecer uma trajetória inovadora para o desenvolvimento translacional de medicamentos orais para a LC a partir de NEQs, a DNDi fez parcerias com um grupo internacional de especialistas acadêmicos, parcerias público-privadas e indústria do Brasil, Reino Unido, Holanda e França, reunindo competências sobre LC, pesquisa e desenvolvimento de fármacos, farmacocinética (PK) e distribuição de medicamentos na pele, biologia parasitária básica, farmacologia quantitativa e modelagem (veja na ilustração os parceiros do projeto e suas responsabilidades). Esse projeto multidisciplinar recebeu recentemente financiamento da Dioraphte, uma fundação privada da Holanda (<https://www.dioraphte.nl/en/>), para

um programa de pesquisa de três anos. O programa está em fase de preparação.

As atividades gerais do projeto estão divididas em dois pacotes de trabalho que se conectam para garantir um fluxo racional de trabalho. O primeiro pacote de trabalho consiste em uma análise detalhada da relação entre a eficácia e exposição na pele e no plasma de promissoras NEQs antileishmaniose utilizando modelos de LC em camundongos. Múltiplas plataformas tecnológicas (microdiálise, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa e técnicas de imageamento quantitativo por espectrometria de massa) serão usadas em estudos de PK e bioanálise para gerar informações quantitativas e espaciais sobre a distribuição das NEQs em diversas camadas da pele de camundongos saudáveis e infectados. Técnicas de modelagem farmacocinética-farmacodinâmica (PKPD) de última geração serão empregadas na determinação da relação exposição-resposta e dos parâmetros de PK requeridos para as NEQs. Uma modelagem moderna empregando modelos farmacocinéticos de base fisiológica será usada para translação e escalonamento entre espécies, produzindo informações essenciais sobre como os medicamentos administrados de maneira sistêmica se distribuem pelos tecidos da pele e interagem com os parasitas *Leishmania*. A aplicação desses conheci-

mentos permitirá melhorar as previsões sobre a dosagem eficaz em humanos e definir parâmetros mensuráveis e verificáveis de PK em humanos para uso e validação futuros em ensaios clínicos de Fase II com estas NEQs para LC.

O segundo pacote de trabalho consiste no desenvolvimento de novas ferramentas de descoberta de fármacos para a LC, mais especificamente um modelo murino bioluminescente, esperado há muito tempo, utilizando infecção por *L. braziliensis* na pele, o agente causador de LC mais relevante do ponto de vista clínico e mais difícil de tratar nas Américas.

A construção desta plataforma de desenvolvimento de medicamentos para a LC permitirá gerar conhecimentos pré-clínicos de alto valor translacional para NEQs de uso oral que sejam promissoras, aumentando a probabilidade de progressão futura destes candidatos para a etapa de estudos clínicos.

Como resultado deste projeto, NEQs promissoras alcançarão os pacientes mais rapidamente, aliviando o sofrimento desnecessário das populações afetadas nos países endêmicos. Além disso, o uso desta plataforma translacional poderia ser expandido para a leishmaniose dérmica pós-calazar, a leishmaniose mucocutânea e outras doenças parasitárias da pele. •

EXPEDIENTE

Conselho editorial:

Byron Arana, Joelle Rode e Marina Certo

Tradução:

Carolina Alfaro e Scriba Traduções

Fotos:

Daniel Moreira de Avelar,
Fábio Nascimento e Vinicius Berger

Coordenação:

Joelle Rode

Revisão:

Carolina Alfaro, Joelle Rode e Marina Certo

Diagramação:

Alerta!design

Produção:

Karla Menezes e Marina Certo

DNDi

Drugs for Neglected Diseases initiative

Iniciativa Medicamentos para Enfermidades Olvidadas

Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas

DNDi América Latina

Rua São José 70, sala 601- CEP 20010-020 - Rio de Janeiro - Brasil

Tel: +55 21 2529-0426 | www.dndi.org

Sede DNDi

15 Chemin Camille-Vidart 1202 - Geneva - Switzerland

Tel: +41 22 906 9230 | Fax: +41 22 906 9231 | www.dndi.org