



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LALESKA BARROS CASTRO DOS SANTOS

**Co-terapia própolis vermelha de Alagoas e Glucantime®: avaliação clínica nas leishmanioses**

Maceió

2021

LALESKA BARROS CASTRO DOS SANTOS

**Co-terapia própolis vermelha de Alagoas e Glucantime®: avaliação clínica nas leishmanioses**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): Profa. Dra. Camila Braga Dornelas

Maceió

2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237c Santos, Laleska Barros dos.

Co-terapia própolis vermelha de Alagoas e Glucantime® : avaliação clínica nas leishmanioses / Laleska Barros dos Santos. – 2021.

77 f. : il. color.

Orientadora: Camila Braga Dornelas.

Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 48-55.

Apêndices: f. 56-61.

Anexos: f. 62-77.

1. Leishmaniose tegumentar difusa. 2. Leishmaniose visceral. 3. Antimoniato de meglumina. 4. Própolis. I. Título.

CDU: 615.2:616.928.5:616.993.161



### Ata de defesa de dissertação

Aos **doze dias do mês de abril** de **2021**, às nove horas, reuniu-se via Videoconferência, a banca examinadora composta pelas docentes doutoras e pelos docentes doutores, Camila Braga Dornelas, Luciano Aparecido Meireles Grillo, Célia Maria Silva Pedrosa e Fernando de Araújo Pedrosa, para o exame de defesa da dissertação intitulada: **“Co-terapia própolis vermelha de Alagoas e Glucantime®: avaliação clínica nas leishmanioses”**, elaborada pela mestranda **Laleska Barros Castro dos Santos**, regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Nível Mestrado, sob a orientação da **Profa. Dra. Camila Braga Dornelas**, que presidiu os trabalhos. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 10:30 horas, os examinadores consideraram a dissertação **(X) APROVADA OU ( ) APROVADA COM RESTRIÇÃO**, emitindo o seguinte parecer: Mediante correções indicadas pela banca examinadora.

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 11 horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Curso de Mestrado, lavrei a presente ata que segue assinada pela Banca Examinadora e pela Mestranda.

**Maceió, 12 de abril de 2021**

**Presidente (Orientadora):** Profa. Dra. Camila Braga Dornelas

*Camila B. Dornelas*

**Examinador Interno:** Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo

*Luciano A. M. Grillo*

**Examinadora Externa:** Profa. Dra. Célia Maria Silva Pedrosa

*Celia Maria Silva Pedrosa*

**Examinador Externo:** Prof. Dr. Fernando de Araújo Pedrosa

*Fernando de Araújo Pedrosa*

**Mestranda:** Laleska Barros Castro dos Santos

*Laleska Barros C. dos Santos*



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

---

**PPG  
CF  
UFAL**

*Dedico primeiramente a Deus, a minha mãe, meu pai, meu marido e toda minha família, razões da minha existência, minhas fontes inspiradoras e responsáveis por esta conquista.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela sua presença constante em minha vida me protegendo e me guiando em tudo o que faço.

Aos meus pais, pelo amor, confiança, incentivo e apoio incondicional que sempre me dedicaram.

Ao meu esposo, pelo incentivo, amor e paciência em todas as etapas da minha vida.

A minha família e família do meu esposo, por todo incentivo e amor.

Aos colegas do Tecnano, com quem compartilho minha vida acadêmica desde o início da graduação

A minha orientadora Camila Dornelas, que me acompanha desde o início da graduação, pela confiança.

Aos Professores e médicos Célia Pedrosa e Fernando Pedrosa, por todo conhecimento, incentivo e colaboração durante o período da pesquisa, os quais tive o prazer de conviver dia a dia.

Aos colegas do Hospital HEHA, nas pessoas de Carlos, Darnie, Bruna, Laís, Luciana, Gabriele, Cícero, Dr. Eduardo, Dra. Auriene, Dra. Claudiane e Dr. Gilberto, que contribuíram bastante na pesquisa de Leishmaniose Visceral.

Aos amigos, Patrícia, Quitéria e Alfredinho que contribuíram bastante na pesquisa de Leishmaniose Tegumentar.

Aos meus amigos do LBFI, Camilla, Mariana, Meire, Thomás, Josiel e João, por todo apoio e contribuição em algumas etapas essenciais do projeto.

A Tamires e Giselle, por todo incentivo e por estarem sempre comigo, em todos os momentos.

A banca de mestrado, nas pessoas do professor Fernando Pedrosa e da professora Célia Pedrosa, que aceitaram fazer parte desta etapa de avaliação a fim de contribuir com o trabalho.

E, por fim, à Fapeal pela bolsa concedida e aos demais órgãos de fomento que deram suporte ao trabalho.

## RESUMO

A leishmaniose é uma doença negligenciada que segundo o agente etiológico pode se apresentar como Leishmaniose Tegumentar (LT) e Visceral (LV). Para ambas a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza o uso de antimoniais (no Brasil, o Glucantime<sup>®</sup>) como medicamento de primeira escolha, apesar de apresentar alguns inconvenientes, como longo período de tratamento, via de administração parenteral e incidência de efeitos colaterais. Daí a importância da busca por alternativas na quimioterapia das leishmanioses. Assim, o projeto tem por objetivo a investigação clínica da co-terapia, Propólis vermelha de Alagoas PVA (administração oral) associada ao Glucantime<sup>®</sup> em pacientes portadores de LT e LV. O estudo foi dividido em dois grupos, controle (GE-LTA e GE-LVA) para pacientes de LT e LV em uso do Glucantime<sup>®</sup> e os pacientes que fizeram o uso da PVA em co-terapia com Glucantime<sup>®</sup> (GE-LTAB e GE-LVAB). Foram analisadas as variáveis: sexo, faixa etária, procedência, tempo de cicatrização das lesões, marcadores plasmáticos (AST e ALT) e biomarcadores da função renal (ureia e creatinina). Pacientes com LV foram avaliados os mesmos marcadores, além dos marcadores hematológicos (hematócritos, leucócitos, linfócitos e plaquetas), redução do tamanho das vísceras, fígado e baço. O extrato de PVA foi previamente caracterizado de acordo com o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram admitidos no estudo 20 pacientes com LT, 70% do sexo masculino e maioria na faixa de 20 a 59 anos, procedentes da 3ª R.S. A cicatrização das lesões do grupo GE-LTAB se destacou por apresentar uma média de 54,1 dias, quando comparado com o grupo controle, 63,6 dias. Os marcadores e biomarcadores, não apresentaram diferença entre os grupos. Os pacientes de LV, 75% eram do sexo masculino e a maioria eram menores de 20 anos, procedentes das 7ª e 8ª R.S. Os marcadores como ALT e AST, no grupo GE-LVA estavam alterados e no grupo GE-LVAB se manteve dentro da normalidade. Os biomarcadores não apresentaram diferença entre os grupos e o mesmo ocorreu com os marcadores hematológicos. A redução das vísceras foi maior no grupo GE-LVAB. Esse estudo mostrou redução mais acentuada das vísceras no grupo que fez uso da própolis. A partir das informações obtidas, pode-se considerar que, um produto de baixo custo e que diminua o tempo de cicatrização das lesões na LT e na LV atue reduzindo as vísceras acentuadamente, pode apresentar um ganho real na vida social do paciente acometido por esta doença. Enfim, como perspectivas, técnicas específicas como a quantificação da carga parasitária será utilizada para a obtenção da atividade leishmanicida, desses pacientes envolvidos no estudo.

Palavras-chave: Leishmaniose tegumentar, Leishmaniose visceral, Glucantime<sup>®</sup>, Própolis.



## ABSTRACT

Leishmaniasis is a neglected disease that, according to the etiological agent, can present as Tegumentary (LT) and visceral (LV) Leishmaniasis. For both, the World Health Organization (WHO) recommends the use of antimonials (in Brazil, Glucantime<sup>®</sup>) as a medication of first choice, despite presenting some drawbacks, such as a long period of treatment, route of parenteral administration and incidence of side effects. Hence the importance of the search for alternatives in the chemotherapy of leishmaniasis. Thus, the project aims at the clinical investigation of co-therapy, red propolis from Alagoas PVA (oral administration) associated with Glucantime<sup>®</sup> in patients with LT and LV. The study was divided into two groups, control (GE-LTA and GE-LVA) for LT and LV patients using Glucantime<sup>®</sup> and patients who used PVA in co-therapy with Glucantime<sup>®</sup> (GE-LTAB and GE-LVAB). The variables were analyzed: sex, age, origin, time of healing of the lesions, plasma markers (AST and ALT) and biomarkers of renal function (urea and creatinine). Patients with VL were evaluated using the same markers, biomarkers, in addition to hematological markers (hematocrits, leukocytes, lymphocytes and platelets), reduction in the size of the viscera, liver and spleen. The PVA extract was previously characterized according to the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). Twenty LT patients were admitted to the study, 70% male and the majority between 20 and 59 years old, from the 3rd RS. The healing of injuries in the GE-LTAB group stood out for presenting a shorter healing time when compared to the group control. The markers and biomarkers showed no difference between the groups. VL patients, 75% were male and the majority were under 20 years old, coming from the 7th and 8th RS. The markers such as ALT and AST, in the GE-LVA group were altered and in the GE-LVAB group it remained within normality. Biomarkers showed no difference between groups and the same occurred with hematological markers. The viscera reduction was greater in the GE-LVAB group. This study showed a more marked reduction in the viscera in the group that used propolis. From the information obtained, it can be considered that a low-cost product that reduces the healing time of the lesions in the LT and in the LV acts by significantly reducing the viscera, can present a real gain in the social life of the patient affected by this disease. Finally, as perspectives, specific techniques such as the quantification of the parasitic load will be used to obtain the leishmanicidal activity of these patients involved in the study.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Visceral leishmaniasis, Glucantime<sup>®</sup>, Propolis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formas amastigotas (A) e promastigotas (B) de <i>Leishmania spp</i> .....	16
Figura 2 - Fêmea de flebotomíneo.....	17
Figura 3- Ciclo biológico da leishmaniose .....	18
Figura 4 - Distribuição geográfica da LT no mundo em 2018 .....	19
Figura 5 - Distribuição geográfica da LV no mundo em 2018.....	19
Figura 6 - Lesão característica de Leishmaniose Tegumentar .....	22
Figura 7 - Paciente com perda de peso e presença de hepatoesplenomegalia.....	23
Figura 8 – Aspecto visual de: a) Própolis vermelha de Alagoas e b) Planta da espécie <i>Dalbergia ecastophyllum</i> (rabo-de-bugio) .....	28
Figura 9 - Foto do paciente L.A.B. incluído no presente estudo diagnosticado com LTA. (a) lesão cutânea no dedo anelar esquerdo (b) lesão cicatrizada.....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição de casos novos confirmados da LT por regiões notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) .....	20
Tabela 2 - Distribuição de casos confirmados da LV por regiões notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) .....	20
Tabela 3 - Distribuição dos casos novos confirmados de LT e LV em Alagoas notificados na Secretaria de Estado da Saúde de Alagoas .....	21
Tabela 4 - Requisitos mínimos do extrato de própolis de acordo com o MAPA e os parâmetros do extrato obtido .....	34

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Agrupamento da própolis brasileira quanto à cor .....	27
Quadro 2 - Atividades biológicas da própolis vermelha de Alagoas .....	29
Quadro 3 - Distribuição dos indivíduos por grupo de estudo.....	32
Quadro 4 - Detalhamento dos pacientes participantes do estudo .....	35
Quadro 5 - Média dos valores obtidos de marcadores plasmáticos dos pacientes .....	38
Quadro 6 - Detalhamento dos pacientes participantes do estudo .....	39
Quadro 7 - Média dos valores obtidos dos marcadores plasmáticos dos pacientes .....	41
Quadro 8 - Média dos valores obtidos de marcadores hematológicos dos pacientes.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
Ca <sup>2+</sup>	Íon de cálcio
DATASUS	Departamento de Informática do SUS
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção enzimática
GIANS	Gerência de Informação e Análise da Situação da Saúde
HEHA	Hospital Escola Dr. Hέλvio Auto
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IRA	Insuficiência Renal Aguda
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
MAPA	Ministério de Agricultura
NaCl	Cloreto de Sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PVA	Própolis Vermelha de Alagoas
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
Sb III	Antimônio trivalente
Sb(V)	Antimônio Pentavalente
SESAU	Secretaria de Estado da Saúde
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
SUVISA	Superintendência de Vigilância em Saúde
R.S.	Região de Saúde
TALEs	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLEs	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
2.1 Leishmaniose .....	16
2.1.1 Leishmaniose Tegumentar Americana .....	21
2.1.2 Leishmaniose Visceral .....	23
2.2 Tratamento .....	24
2.2.1 Própolis .....	25
2.2.1.1 Própolis Vermelha de Alagoas (PVA).....	27
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	30
3.1 Objetivo geral .....	30
3.2 Objetivos específicos .....	30
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
4.1 Material .....	31
4.2 Métodos .....	31
4.2.1 Obtenção e caracterização físico-química do extrato de própolis vermelha de Alagoas .....	31
4.2.2. Delineamento do estudo.....	31
4.2.3 Definição dos grupos .....	31
4.2.3.1 Cicatrização das lesões (LT).....	32
4.2.3.2 Efeito protetor .....	32
<b>4.3 Aspectos éticos</b> .....	33
<b>5 RESULTADOS</b> .....	33
5.1 Obtenção e caracterização físico-química do extrato de própolis vermelha de Alagoas	33
5.2 Leishmaniose Tegumentar .....	34
5.2.1 Cicatrização das lesões .....	36
5.2.2 Efeito protetor .....	37
5.3 Leishmaniose Visceral .....	38
5.3.1 Efeito protetor .....	40
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	44
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45
<b>APÊNDICE 1-</b> Características das lesões de LT dos pacientes incluídos no estudo .....	53
<b>APÊNDICE 2-</b> Marcadores Plasmáticos (AST e ALT) e Biomarcadores (Ureia e Creatinina) em pacientes diagnosticados com LT, em a) GE-LT-A e em b) GE-LTAB .....	59
<b>APÊNDICE 3-</b> Marcadores Plasmáticos (AST e ALT) e Biomarcadores (Ureia e Creatinina) em pacientes diagnosticados com LV, em a) GE-LVA e em b) GE-LVAB .....	60

<b>APÊNDICE 4-</b> Marcadores Hematológicos (Hematócrito, leucócitos, linfócitos e plaquetas) em pacientes diagnosticados com LV, em a) GE-LVA e em b) GE-LVAB .....	61
<b>APÊNDICE 5-</b> Gráficos referentes à diminuição do tamanho baço e fígado. Dados do GE-LV-A em: A) diminuição do tamanho baço e B) Diminuição do tamanho do fígado; Dados do GE-LV-AB em: C) diminuição do tamanho baço e D) Diminuição do tamanho do fígado. ...	62
<b>ANEXO 1-</b> Aprovação CEP/UFAL .....	64
<b>ANEXO 2-</b> Termos de consentimento/ assentimento LT .....	69
<b>ANEXO 3-</b> Termos de consentimento/ assentimento LV .....	75

## 1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças causadas por protozoários aproximadamente 20 diferentes espécies de *Leishmania* (ARONSON & MAGILL, 2020). Atualmente é endêmica em 102 países/áreas, segundo Uzun et al. (2018). Na Região Nordeste, o Estado de Alagoas tem importância no cenário nacional devido ao constante número de casos notificados (ROCHA et al., 2015).

A depender do agente etiológico, a doença se manifesta como Leishmaniose Tegumentar, que acomete a pele e/ou mucosas, ou Leishmaniose Visceral, que acomete as vísceras. Independente da manifestação clínica, a transmissão ocorre por meio da picada do flebotômio fêmea da espécie *Lutzomyia longipalpis* entre outras menos frequentes (NEVES et al., 2011).

A leishmaniose faz parte do grupo de doenças negligenciadas, possuindo um baixo arsenal de medicamentos para tratamento, sendo as drogas de primeira escolha os antimoniais pentavalentes (ANVERSA et al., 2018). Estes compõem o tratamento primário no Brasil, onde é disponibilizado o antimonio de N-metilglucamina (Glucantime<sup>®</sup>) pelo Ministério da Saúde. Porém, os efeitos adversos e a crescente resistência dos parasitas a esse fármaco, justifica a busca por novas terapias (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015), onde, segundo a Organização Mundial de Saúde (2012), a terapia combinada entre duas substâncias ou fármacos surge como alternativa promissora de estudo. Nesse contexto, temos a própolis vermelha de Alagoas (PVA), que é um produto natural rico em substâncias biologicamente ativas e que já possui descrição na literatura quanto a sua atividade contra diversas espécies de *Leishmania*. (REGUEIRA-NETO et al., 2018). Assim, a investigação da co-terapia de PVA e Glucantime<sup>®</sup> é justificada, já tendo relato que esta associação promove maior evidência dos efeitos antiinflamatórios da própolis e diminui os efeitos colaterais do antimonial (SILVA et al., 2016). O nosso grupo de pesquisa também avaliou, por meio de estudo *in vitro*, *in vivo* e clínico, a combinação do uso de Glucantime<sup>®</sup> por via injetável com própolis vermelha de Alagoas por via tópica, para tratamento de Leishmaniose Tegumentar e foi observado menor tempo de cicatrização, além de proteção de fígado, rins e baço (DORNELAS et al., 2015).

Com isso, o objetivo desse estudo foi prestar prevenção secundária com a investigação de própolis vermelha de Alagoas para uso oral em co-terapia com



Glucantime<sup>®</sup>, ampliando o público alvo para pacientes não somente de LT, mas também de LV, afim de observar esses mesmos resultados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

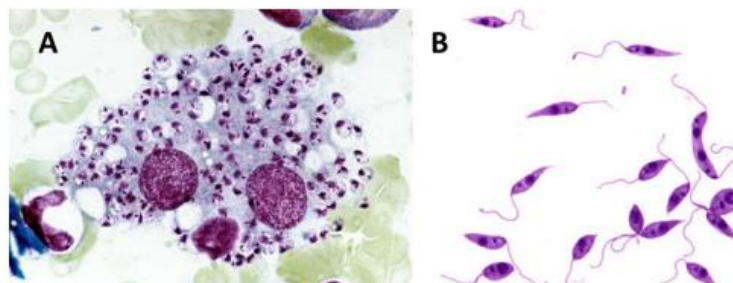
### 2.1 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica encontrada em todo o mundo e é listada como uma doença tropical negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e o número de casos em áreas endêmicas aumentou nos últimos anos (GALGAMUWA et al., 2018). Estima-se que 1,3 milhões de novos casos ocorrem anualmente, segundo a Organização Mundial da Saúde.

Causado por cerca de 20 espécies de um protozoário flagelado do gênero *Leishmania* sp., (AKHOUNDI et al., 2016) subdividido em dois subgêneros distintos, *L. (Leishmania) spp.* e *L. (Viannia) spp.*, da ordem Kinetoplastidae da família Tripanosomatidae (NEVES et al., 2011).

Os parasitas responsáveis pela doença são intracelulares dimórficos, classificados em forma amastigota ou aflagelada (Figura 1A) nos tecidos dos hospedeiros vertebrados, especificadamente nos macrófagos e a forma promastigota ou flagelada (Figura 1B) no intestino dos flebotomíneos.

Figura 1 – Formas amastigotas (A) e promastigotas (B) de *Leishmaniaspp*



Fonte: Silveira (2016)

A leishmaniose causa diferentes manifestações clínicas que são determinadas pelo equilíbrio entre fatores parasitários (por exemplo, tropismos, virulência, resistência, espécies) e a resposta imune do hospedeiro (COPELAND E ARONSON, 2015).

A depender do agente etiológico envolvido, a doença pode ser apresentada em Leishmaniose Tegumentar (LT) e Visceral (LV) (CDC, 2017).

Independente da forma clínica, os únicos vetores comprovados da doença são flebotomíneos fêmeas (Figura 2), as espécies do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo

e *Lutzomyia* no Novo Mundo (SUNDAR E CHAKRAVARTY, 2015, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). São conhecidos popularmente, a depender da localização geográfica, como mosquito-palha, tatuquira, birigui, cangalhinha entre outros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Figura 2 - Fêmea de flebotomíneo



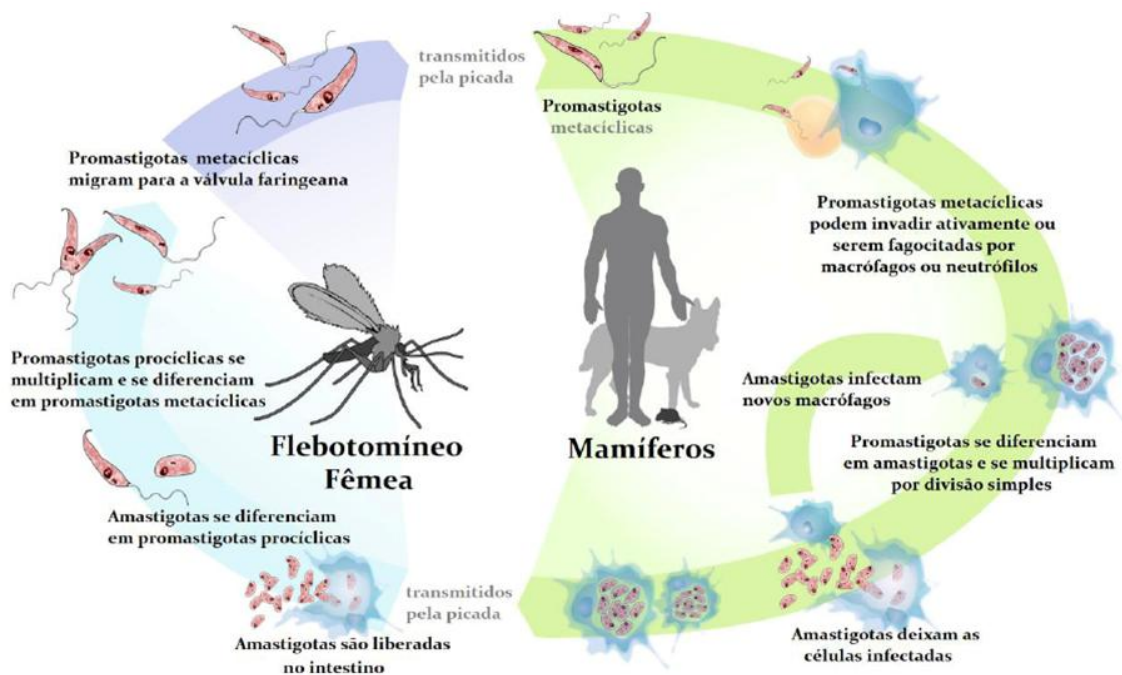
Fonte: Ministério da Saúde (2017)

Os flebotomíneos possuem hábito crepuscular, realizam principalmente atividade máxima em clima quente (verão), quando as temperaturas estão acima dos 18°C e em noites claras com baixa velocidade do vento (SALAM et al., 2014, ZAHRAEI-RAMAZANI e WANNIGAMA, 2016).

O ciclo evolutivo da *Leishmaniaspp.* (Figura 3) é digenético obrigatório, envolvendo um estágio em hospedeiro invertebrado (flebotomíneo), e outro estágio em hospedeiro vertebrado que podem ser animais domésticos, silvestres e o homem (JAIN e JAIN, 2015).

As promastigotas chegam ao proventrículo do inseto e no momento do repasto sanguíneo são introduzidas juntamente com a salivana derme do hospedeiro vertebrado, promovendo, assim, uma resposta inflamatória imediata que atrai células fagocíticas para o local. As formas promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos ocorrendo, então, a transformação em amastigota intracelular. Multiplicam-se por divisão binária de tal forma a romper a célula hospedeira. Com o rompimento dos macrófagos, há liberação de grande número de parasitas, que invadem outras células e podem, dessa maneira, atingir outros locais do organismo (NEVES et al., 2011).

Figura 3- Ciclo biológico da leishmaniose



Fonte: Adaptado de Harhay et al. (2011)

A transmissão ocorre através da picada de flebotomíneos hematófagos é a via de maior importância epidemiológica, no entanto existem outras, transfusão sanguínea, uso de drogas intravenosas, transplante de órgãos e transmissão congênita e laboratoriais (GRIENSVEN e DIRO, 2019).

A maioria dos indivíduos acometidos consegue conter a infecção e estabelecer uma imunidade duradoura; outros podem desenvolver uma forma denominada oligossintomática da infecção, que também pode ser resolvida espontaneamente; mas há ainda aqueles em que ocorre a evolução para a doença clássica (NETO; AMATO; GRYSCHKEK, 2008). As características do parasita determinam o local de disseminação, como sensibilidade à temperatura (REITHINGER e DAVIES, 2002), capacidade de imunoevasão (MCDOWELL et al., 2002) e tropismo pelo tecido (ZHANG et al., 2003).

Atualmente, a leishmaniose é cada vez mais vista entre migrantes, viajantes, ecoturistas e militares. Surto recentes de leishmaniose podem ser devidos ao aumento da migração humana que causam a introdução de doenças em ambientes mais novos (DAWIT E GIRMA, 2013, SALAM et al., 2014). Além disso, a *Leishmania* tem sido

cada vez mais vista como um patógeno oportunista de adultos infectados pelo HIV (ALVAR et al., 2012, GALGAMUWA et al., 2018).

Atualmente, a leishmaniose é endêmica em 102 países /áreas, de acordo com Uzun et al., (2018), onde mais de 90% das infecções ocorrem em países como Brasil, Etiópia, Sudão, Sudão do Sul, Índia e Bangladesh (AKHOUNDI et al., 2016). Em média existem cerca de 350 milhões de pessoas em situação de risco e aproximadamente 12 milhões de casos de infecção em todo mundo A mortalidade e morbidade por leishmaniose são estimadas em 2 a 4 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade em todo o mundo (UZUN et al., 2018, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

De acordo com a última atualização da OMS, nas figuras 4 e 5 mostram a distribuição mundial de LT e LV.

Figura 4 - Distribuição geográfica da LT no mundo em 2018

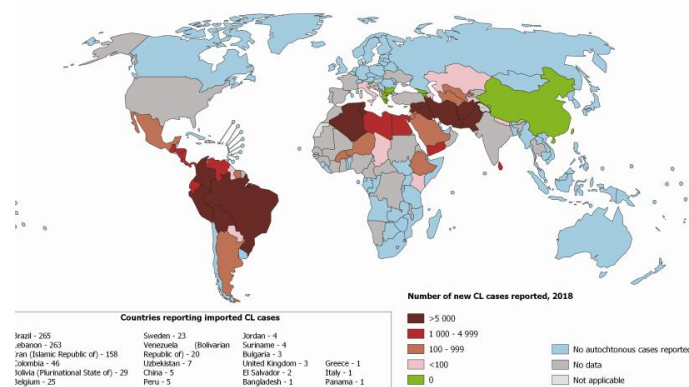
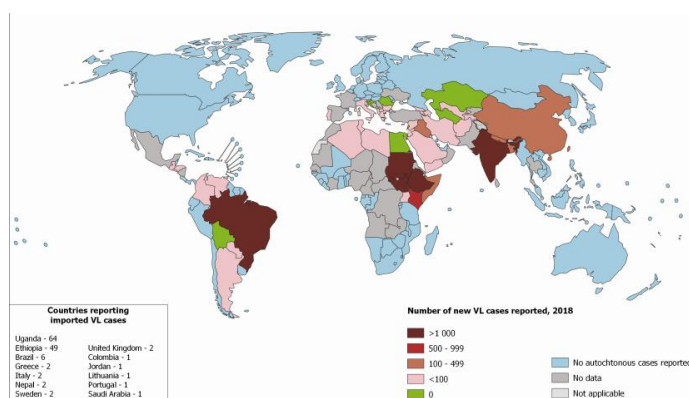


Figura 5 - Distribuição geográfica da LV no mundo em 2018



Fonte: OMS (2019)

No Brasil foram notificados de acordo com o DATASUS (2019), 253.439 casos de Leishmaniose Tegumentar no período de 2007 a 2018 e 45.055 casos de Leishmaniose Visceral, como mostra nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Percebe-se que

a região nordeste apresenta uma maior prevalência (depois da região Norte) de casos de LT e LV, quando comparadas as demais regiões.

Tabela 1 - Distribuição de casos novos confirmados da LT por regiões notificadas ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN)

<b>Ano</b>	<b>Região Norte</b>	<b>RegiãoNordeste</b>	<b>RegiãoSudeste</b>	<b>Região Sul</b>	<b>Região Centro-Oeste</b>	<b>Total</b>
2007	10.386	6.272	2.112	562	3.313	22.645
2008	9.349	6.605	1.791	672	3.248	21.665
2009	8.919	7.384	1.811	522	4.763	23.399
2010	7.748	9.453	2.654	309	3.451	23.615
2011	9.246	8.533	2.458	364	2.511	23.112
2012	11.034	8.876	1.626	484	3.363	25.383
2013	9.101	5.775	1.377	344	3.156	19.753
2014	11.194	5.429	1.705	420	3.283	22.031
2015	9.653	5.591	1.995	543	3.193	20.975
2016	5.870	3.771	1.676	318	2.313	13.948
2017	8.835	4.926	2.114	293	2.795	18.963
2018	8.515	4.415	2.255	257	2.508	17.950

Fonte: DATASUS (2019)

Tabela 2 - Distribuição de casos confirmados da LV por regiões notificadas ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN)

<b>Ano</b>	<b>Região Norte</b>	<b>RegiãoNordeste</b>	<b>RegiãoSudeste</b>	<b>Região Sul</b>	<b>Região Centro-Oeste</b>	<b>Total</b>
2007	802	1.726	690	4	343	3.565
2008	861	1.893	836	5	396	3.991
2009	775	1.939	824	10	346	3.894
2010	702	1.845	810	7	340	3.704
2011	902	2.046	756	6	397	4.107
2012	634	1.537	664	7	427	3.269
2013	572	1.984	555	4	357	3.472
2014	434	2.422	591	6	280	3.733
2015	506	2.148	664	6	234	3.558
2016	622	1.828	756	17	232	3.455
2017	861	2.199	1.096	17	283	4.456
2018	836	2.197	604	15	199	3.851

Fonte: DATASUS (2019)

No período de janeiro de 2017 a julho de 2019, foram notificados 327 casos diagnosticados de LV e 155 de LT em Alagoas, conforme observado na Tabela 3. Embora tenha ocorrido um aumento linear no número de registros, somente em 2018

foram notificados 166 casos de LV, superando o dobro do número confirmado no ano anterior(78). A respeito de LT, em 2019 já ultrapassa o número de notificações dos anos anteriores.

Tabela 3 - Distribuição dos casos novos confirmados de LT e LV em Alagoas notificados na Secretaria de Estado da Saúde de Alagoas

<b>Ano</b>	<b>LT</b>	<b>LV</b>
2017	31	78
2018	33	166
2019	91	83
Total	155	327

Fonte: SUVISA/SESAU (2019)

### 2.1.1 Leishmaniose Tegumentar Americana

A LTA é uma doença complexa que consiste em mais de 20 espécies de *Leishmania* que apresentam patogenicidade e suscetibilidade a drogas variadas. Apresenta lesões comaspectodesfigurante, especialmente em mulheres, e geralmente deixa cicatrizes em áreas expostas do corpo, como face, braços e pernas, causando problemas psicológicos, sociais e econômicos (TEMEL,2019).

Os agentes causadores de LT no mundo antigo são principalmente *Leishmania* (*L. major*, *L. tropica* e *L. aethiopica*, enquanto no novo mundo são *L. mexicana*, *L. braziliensise* *L. guyanensis* (KAYE & SCOTT, 2011).

No Brasil já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*: *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenbergl*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis*. As três últimas são consideradas como as principais espécies (GOTO e LINDOSO, 2012).

A LT pode apresentar uma única lesão ou lesões múltiplas, grandes e destrutivas (BLUM et al., 2014). As lesões aparecem após um período de incubação, que muitas vezes podem durar vários meses. A cura espontânea geralmente resulta em imunidade vitalícia (UZUN et al., 2018).

A doença geralmente se apresenta como uma pápula eritematosa, acastanhada e indolor após um longo período de incubação de 2 a 8 meses. Essas pápulas que aparecem recentemente aumentam gradualmente, transformando-se em nódulo ou placa dentro de 6 meses (TEMEL et al., 2019).

As lesões na maior parte dos casos são localizadas nas áreas expostas da pele, principalmente nos membros inferiores, de aspecto arredondada ou oval, com borda elevada (em moldura), limites bem definidos e base infiltrada, eritematosa e de consistência firme (Figura 6). O fundo é avermelhado com granulação grosseira (BRASIL, 2017, TEMEL et al., 2019, TIRONI et al, 2021).

Figura 6 - Lesão característica de Leishmaniose Tegumentar



Fonte: Ministério da Saúde, 2017

Após o tratamento ou cicatrização espontânea, as lesões podem resultar em cicatrizes atróficas, deprimidas, com áreas de hiper e hipocromia, as cicatrizes podem ainda ser hipertróficas com traves fibrosas ou inaparentes. Geralmente a cicatriz apresenta o mesmo tamanho e formato da lesão ativa original (UZUN et al., 2018).

É também conhecida como leishmaniose mucocutânea, úlcera de Bauru, ferida brava entre outras denominações, considerada a forma mais disseminada da doença, frequentemente desenvolve lesões cutâneas expansivas e persistentes, causando deformidades no paciente acometido, no entanto, o tipo da lesão, a eficiência do tratamento, o tempo de cicatrização, entre outros fatores, variam de acordo com a etiologia, estima-se que 3 a 5% dos casos de LC desenvolvam lesão mucosa (NEVES et al., 2011).

O diagnóstico de LT se dá principalmente pela suspeita clínica-epidemiológica. O mesmo é realizado conforme as características da lesão associadas à anamnese, cujos dados epidemiológicos são de suma importância. Comumente é realizado o exame parasitológico, através da pesquisa direta das formas amastigotas em material obtido da lesão por escarificação, aspiração ou biópsia da borda, corado pelo Giemsa ou Leishman. A sensibilidade deste método é em torno de 50% para *L. braziliensis* (BRASIL, 2017).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um exame que permite amplificar em escala exponencial sequências de DNA. Dotada de alta sensibilidade, é capaz de detectar quantidades tão pequenas quanto 1 fentograma (1 fentograma =  $10^{-15}$ g) do



DNA de uma *Leishmania*, o equivalente a 1/10 do parasita. Entretanto, as exigências técnicas e o custo relativamente elevado ainda limitam seu emprego rotineiro. O exame apresenta sensibilidade de 98,41% e especificidade de 95,59% no diagnóstico da LT (MARTINS et al., 2010).

### 2.1.2 Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral (LV) afeta principalmente o órgão visceral do hospedeiro infectado. Os parasitos possuem ampla distribuição e pertencem ao complexo *Leishmaniadonovani*, que incluem as espécies *Leishmaniadonovani* (encontrada no subcontinente Indiano, Ásia e África), *Leishmaniainfantum* (no Mediterrâneo) e *Leishmaniachagasi* (na América do Sul) (DANTAS&TORRES, 2006).

A LV é considerada a forma mais grave da doença (DAS et al., 2016), podendo se tornar fatal em 90% dos pacientes não tratados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). A manifestação clínica principal é a febre de curso prolongado, caracterizada por palidez, emagrecimento, aumento do volume abdominal, hepatoesplenomegalia e edema. É possível ainda ter o aparecimento de outros aspectos clínicos, como tosse, icterícia, diarreia e sangramento (Figura 7) (PEDROSA & ROCHA, 2010, SUNDAR&CHAKRAVARTY, 2015).

Figura 7 - Paciente com perda de peso e presença de hepatoesplenomegalia



Fonte: OMS (2019)

O diagnóstico é dado através de exames imunológicos e parasitológicos. Os exames imunológicos incluem Imunofluorescência indireta (RIFI), utilizada a partir da década de 60, demonstra sensibilidade que varia de 90 a 100% e especificidade

aproximada de 80% para amostras de soro e Ensaio imunoenzimático (ELISA), é o mais utilizado para imunodiagnóstico de LV. É um teste rápido, de fácil execução e leitura, sendo um pouco mais sensível e um pouco menos específico que a RIFI (ALVES & BEVILACQUA, 2004; GONTIJO & MELO, 2004).

O exame parasitológico é realizado através do aspirado de medula óssea, biópsia hepática e a aspiração de linfonodos garantindo sensibilidade entre 90 a 95% para demonstração do parasita (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

É utilizado também o critério clínico epidemiológico em pacientes clinicamente suspeitos, sem confirmação laboratorial, provenientes de área com transmissão de LV, mas com resposta favorável ao teste terapêutico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

## 2.2 Tratamento

Os antimoniais pentavalentes são utilizados desde 1945 e continuam sendo a droga de primeira escolha para o tratamento da leishmaniose. Dentre esses medicamentos, os antimoniais continuam sendo os medicamentos de primeira escolha para tal, a mais de 70 anos (SALAM et al., 2014, ANSARI et al., 2017). Um dos mecanismos consiste no modelo pró-fármaco e o SbV ativo. No modelo pró-fármaco, os compostos de SbV são pró-fármacos desempenhando sua atividade contra o parasita da *Leishmania* após a redução ao antimonial trivalente (SbIII) nas células hospedeiras (BAIOCCO et al., 2009). O SbIII também induz a morte celular programada pela ativação do estresse oxidativo e aumento dos íons  $Ca^{2+}$  intracelulares (MOOKERJEE et al., 2006; FRÉZARD et al., 2009). E através do modelo SbV ativo, este semi-metal tem atividade leishmanicida intrínseca, levando finalmente à inibição da DNA topoisomerase I (FRÉZARD et al., 2009).

Existem uma série de fármacos indicados para o tratamento da leishmaniose além dos antimoniais, têm diferentes drogas clássicas como anfotericina B e sua formulação lipídica (AmBisome<sup>®</sup>), pentamidinas (sulfato de pentamidina e mesilato de pentamidina); além da paromomicina e o miltefosine, que têm sido empregadas como medicamentos eficazes para leishmaniose há décadas (ORYAN et al., 2018, ROSENTHAL e MARTY, 2003).

Existem no mercado atualmente duas formulações de Sb(V) disponíveis, o antimoniatode N-metil glucamina (Glucantime<sup>®</sup>, Aventis, França) utilizado no Brasil, por exemplo, e o estibogluconato de sódio (Pentostan<sup>®</sup>, Glaxo Wellcome, Reino Unido)

(KEDZIERSKI et al., 2009, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). O SbV é administrado sistemicamente com uma dose de 15 mg / kg / dia por 20 dias para o LT e 20 mg / kg / dia durante 20 dias para o LV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

De acordo com o Ministério da Saúde (2016), alguns dos efeitos colaterais vinculados ao Glucantime<sup>®</sup> são, artralguas, mialgias, inapetência, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, dor no local da aplicação, febre, insuficiência renal aguda (IRA). Pode ainda ocorrer erupção de herpes zoster. Esses efeitos geralmente ocorrem de forma discreta ou moderada e infreqüentemente exigem a suspensão do fármaco. Alterações cardíacas, renais e/ou hepáticas, podem ocorrer, obrigando o interrompendo do tratamento (SECRETARIA DA SAÚDE, 2007).

Assim, torna-se necessário a busca por novas terapias (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015), onde, segundo Griensven e Diro (2012), incentiva o uso da terapia combinada entre duas substâncias, pela possibilidade de um regime mais curto, barato e bem tolerado, em um processo mais simples que o relacionado à investigação de novos candidatos a fármacos. A OMS também estimula o uso da terapia combinada entre duas substâncias ou fármacos como uma alternativa promissora (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2012).

Nesse contexto, se enquadra a própolis vermelha de Alagoas (PVA), que é um produto natural rico em substâncias biologicamente ativas e que já possui descrição na literatura quanto a sua atividade leishmanicida (REGUEIRA-NETO et al., 2018).

### 2.2.1 Própolis

A própolis é uma mistura resinosa coletadas pelas abelhas e transformadas através de brotos de árvores, fluxos de seiva ou outras fontes botânicas e tem sido usada pela etnobotânica e pelos praticantes tradicionais desde o início do Egito em 3000 aC. A palavra própolis deriva do grego, onde *pro* significa "na entrada para" e *polis* para "cidade", indicando que este produto é usado na defesa da colmeia. Devido às suas propriedades cerosa e mecânica, a própolis é usada pelas abelhas como cimento para manter estáveis a umidade e temperatura na colmeia durante todo o ano e para selar qualquer rachadura ou espaços abertos (LUSTOSA et al., 2008, ZABAIYOU et al., 2017).

A própolis consiste principalmente em 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de outros compostos orgânicos e 5% de pólen (GÓMEZ et al.,

2006). A mesma contém metabólitos secundários de plantas, incluindo ácidos fenólicos, ésteres fenólicos, flavonoides, clerodanos, lupeonas, propolonas, benzofenonas preniladas, esses foram identificados em diferentes própolis ao redor do mundo e são responsáveis pelas atividades biológicas na matéria-prima de própolis. Esses compostos, no todo, são considerados um "extrato de múltiplos constituintes" de um produto natural e têm uma finalidade de múltiplos alvos em sistemas biológicos (DE MENDONÇA et al., 2016).

Existem muitas ações farmacológicas relacionadas à própolis, dentre elas destacam-se: antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, hepatoprotetora, imunomodulatória, hipotensiva, anestésica, anticâncer e cicatrizante (ORSI et al., 2000; PARK et al., 1998; SFORCIN et al., 2000). Poucos são os estudos com a própolis por via oral, esses estão listados abaixo de acordo com os relatados na literatura.

Ferreira et al. (2014) observaram em seus estudos que a administração oral do extrato aquoso da própolis verde foi capaz de reduzir a carga parasitária no fígado de camundongos infectados com *L. infantum*, embora não tenha sido observado sinergismo quando associado ao antimoníaco de megluminalipossomal (por via intraperitoneal). O extrato também apresentou uma melhor preservação dos tecidos hepático e esplênico em relação aos danos que os autores atribuíram à infecção. Doganyigit et al. (2013) também observaram redução de dano hepático do extrato aquoso de própolis verde em quadro de endotoxemia experimental (induzida por lipopolissacarídeo, LPS) em ratos.

Estudos realizados por Machado et al. (2007) mostraram que o extrato hidroalcoólico de própolis foi capaz de matar diferentes espécies de *Leishmania*. Para Pontin et al. (2008), a ação leishmanicida do extrato hidroalcoólico de própolis verde foi investigada, *in vitro*, sobre parasitas (promastigotas e amastigotas) da espécie *L. braziliensis*, e *in vivo*, em camundongos BALB/c infectados com *L. braziliensis*. O extrato mostrou atividade contra promastigotas, porém se mostrou inativo contra amastigotas. Para a avaliação *in vivo*, os camundongos foram tratados (1,5mg/kg/dia) com: extrato, via oral; extrato, via tópica; extrato, vias oral e tópica; Glucantime®; NaCl 0,9% (controle negativo). Os três primeiros grupos levaram a uma redução do diâmetro das lesões, após 90 dias, em 78,6%, 84,3% e 90,0%, respectivamente, enquanto que o Glucantime® apresentou 57,7% de redução, todos em comparação ao controle negativo.

De acordo com Bankova (2005), a origem vegetal da própolis determina a sua composição química, ou seja, esta depende da flora local, no local de coleta, além das

características climáticas e geográficas da região. Dessa forma, as diferentes própolis existentes ao redor do mundo possuem uma ampla diversidade em sua composição, especialmente as originárias das regiões tropicais. No Brasil, existem 13 grupos de própolis (Quadro 1) baseadas em suas características físico-químicas (ALENCAR et al., 2007; DAUGSCH et al., 2007), no qual a própolis vermelha é o tipo mais recentemente encontrado. Além do Brasil, a própolis vermelha também pode ser encontrada em Cuba, Venezuela e México (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016).

Quadro 1 - Agrupamento da própolis brasileira quanto à cor

<b>Grupos</b>	<b>Cor</b>	<b>Origem da própolis</b>
1 (RS)	Amarelo	Região Sul
2 (RS)	Castanho claro	Região Sul
3 (PR)	Castanho escuro	Região Sul
4 (PR)	Castanho claro	Região Sul
5 (PR)	Marrom esverdeado	Região Sul
6 (BA)	Marrom avermelhado	Região Nordeste
7 (BA)	Marrom esverdeado	Região Nordeste
8 (PE)	Castanho escuro	Região Nordeste
9(PE)	Amarelo	Região Nordeste
10(CE)	Amarelo escuro	Região Nordeste
11(PI)	Amarelo	Região Nordeste
12(SP)	Verde ou marrom esverdeado	Região Sudeste
13 (AL)	Vermelha	Região Nordeste

Fonte: Adaptado de Park et al. (2000) e Alencar et al. (2007)

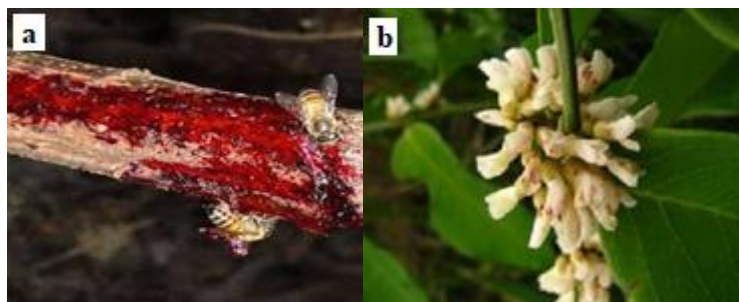
Dentre os 13 grupos de própolis classificado de acordo com a composição e a propriedade biológica, se destaca a PVA, por demonstrar alta atividade biológica (CABRAL, 2008).

#### 2.2.1.1 Própolis Vermelha de Alagoas (PVA)

A própolis é predominantemente vermelha em algumas regiões do Nordeste, principalmente no estado de Alagoas, e ainda é pouco estudada. As propriedades da

própolis estão amplamente relacionadas à sua composição química. No caso da própolis vermelha de Alagoas (Figura 8a), a planta presente na região, que é considerada fonte botânica para produção da própolis é a espécie *Dalbergiaecastophyllum* da família Fabaceae, conhecida popularmente como rabo-de-bugio (Figura 8b) encontrada ao longo da praia e região do manguezal do Nordeste do Brasil, como já descrito em literatura (REGUEIRA et al., 2017; DAUGSCH et al., 2008; DE MENDONÇA et al., 2015; SILVA et al., 2007).

Figura 8 – Aspecto visual de: a) Própolis vermelha de Alagoas e b) Planta da espécie *Dalbergiaecastophyllum* (rabo-de-bugio)



Fonte: a) <https://www.weberexport.com.br/portugu%C3%AAs/produtos/propolis/>  
 b) [https://www.tudosobreplantas.com.br/asp/plantas/ficha.asp?id\\_planta=8903](https://www.tudosobreplantas.com.br/asp/plantas/ficha.asp?id_planta=8903)

A partir de uma análise fitoquímica foi possível identificar a presença de compostos fenólicos, incluindo flavonoides (catequinas, chalconas, auronas, flavonas e flavonóis), além de taninos xantonas e triterpenoides pentacíclicos (MENDONÇA et al., 2015). Por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, Alencar et al. (2007) conseguiram identificar 20 compostos presentes na PVA, dentre eles, foram identificados pela primeira vez, o metil o-orselinato, metil abietato, 2,4,6-trimetilfenol, homopterocarpina, medicarpina, 4',7-dimetóxi-2'-isoflavonol e 7,4'-dihidroisoflavona, dentre os quais os últimos quatro foram encontrados em maior quantidade, que são isoflavonas, importantes pelas propriedades biológicas e pela possibilidade de atuar como marcadores químicos dessa própolis.

No quadro 2 podemos observar a grande variedade de aplicações já estudadas da PVA, desde atividade antibacteriana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, cicatrizante, diminuição da hipertensão e dano renal, estimulante da imunidade e até leishmanicida.

Quadro 2 - Atividades biológicas da própolis vermelha de Alagoas

<b>Atividade biológica da PVA</b>	<b>Referências</b>
Antibacteriana	ALENCAR et al. (2007) MORAES (2007) MORAES et al., 2010 OLDONI et al. (2011) SILVA et al. (2017)
Antifúngica	JUNIOR et al. (2012) FREIRES et al. (2016)
Antioxidante	MENDONÇA et al. (2015) RIGHI et al. (2011)
Anti-inflamatória	BUENO-SILVA et al. (2016) CORRÊA et al. (2017)
Antitumoral	MENDONÇA et al. (2015) OLIVIERI et al. (2017)
Cicatrizante	BATISTA et al. (2012) DORNELAS et al. (BR102015031753)
Diminuição da hipertensão e dano renal	TELES et al. (2015)
Estimulante da imunidade	GOTO; LINDOSO, 2010
Leishmanicida	AYRES et al., (2007) ODA et al (2011) DO NASCIMENTO et al. (2016)

Fonte: Autoria própria, 2019

Não há relatos na literatura de utilização de própolis vermelha de Alagoas por via oral para ambas as formas de leishmaniose em humanos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar, por meio de avaliação clínica e laboratorial, co-terapia própolis vermelha de Alagoas e Glucantime<sup>®</sup> nas leishmanioses.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Obter e caracterizar o extrato de própolis vermelha de Alagoas;
- Avaliar a cicatrização das lesões em pacientes de LT;
- Avaliar o efeito protetor através dos marcadores plasmáticos em pacientes de LT e LV;
- Avaliar os marcadores hematológicos em pacientes de LV;
- Avaliar a regressão das vísceras.



## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

Para elaboração do extrato hidroalcoólico, a PVA foi obtida através do apiário de Fernão Velho (Maceió) em parceria com a União dos Produtores de Própolis Vermelha do Estado de Alagoas – UNIPROPOLIS. Como reagentes foram necessários álcoolmetílico PA (Dinâmica, Brasil), etanol 70% (Santa Cruz) e Álcool de cereais a 70% (CereAlcól, Brasil).

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Obtenção e caracterização físico-química do extrato de própolis vermelha de Alagoas**

Foram realizadas três extrações sucessivas, à temperatura ambiente, em intervalo de 48h entre cada extração, na proporção de 100g de PVA bruta para 400ml de etanol 70%. O extrato obtido foi filtrado utilizando papel filtro comum e em seguida foi rotaevaporado (IKA<sup>®</sup> RV10, Alemanha) para obtenção do extrato bruto de PVA (ALENCAR et al, 2007).A caracterização do extrato seguiu a Instrução Normativa 03/2001/SDA/MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Após a obtenção do extrato bruto, o mesmo foi diluído em álcool de cereais a 70% para elaboração do extrato hidroalcoólico na concentração de 0,2g/mL.

#### **4.2.2. Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo prospectivo randomizado de fase 2 em pacientes admitidos com a hipótese de diagnóstico de LT e LV, durante o período de março de 2017 a janeiro de 2019.

Foi realizada no Hospital Escola Dr. Hέλvio Auto(HEHA), que é público, referência em doenças infecciosas e parasitárias do SUS/ALAGOAS. Atende a maioria dos casos de leishmanioses do Estado.

#### **4.2.3 Definição dos grupos**

Os indivíduos admitidos no estudo formaram dois grupos: Leishmaniose Tegumentar e Leishmaniose Visceral. Cada grupo foi constituído por 20 participantes,

sendo um grupo controle e um grupo caso. Os indivíduos do grupo controle, grupo estudo-LTA (GE-LTA) e grupo estudo-LVA (GE-LVA), são os pacientes com LT ou LV que farão uso somente do tratamento convencional (terapia sistêmica recomendada pelo Ministério da Saúde), e os indivíduos do grupo caso, grupo estudo-LTAB (GE-LTAB) e grupo estudo-LVAB (GE-LVAB), são os pacientes com LT ou LV tratados em co-terapia com própolis vermelha de Alagoas por via oral (0,4 gotas/ kg/ 3x dia) e Glucantime® (Quadro 3).

O acompanhamento dos pacientes foi realizado quinzenalmente, através de visitas periódicas sob orientação de um profissional médico integrante da equipe, e a evolução das lesões foram acompanhadas até seu total desaparecimento.

Quadro 3 - Distribuição dos indivíduos por grupo de estudo

GRUPOS		DESCRIÇÃO	n
LT	GE-LTA	Pacientes que farão uso somente do tratamento convencional (terapia sistêmica recomendada pelo Ministério da Saúde)	10 por grupo
	GE-LTAB	Pacientes tratados em co-terapia com solução de extrato de PVA (via oral).	
LV	GE-LVA	Pacientes que farão uso somente do tratamento convencional (terapia sistêmica recomendada pelo Ministério da Saúde)	
	GE-LVAB	Pacientes tratados em co-terapia com solução de extrato de PVA (via oral).	

#### 4.2.3.1 Cicatrização das lesões (LT)

As lesões foram medidas antes, durante e após o tratamento. As medidas foram no sentido longitudinal e transversal e o cálculo do tamanho da lesão foi realizado com a média dessas duas medidas para avaliar a evolução da cicatrização da mesma.

#### 4.2.3.2 Efeito protetor

Como indicadores, foram avaliados, os efeitos hepatoprotetor e renoprotetor a partir dos marcadores plasmáticos AST(aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase), creatinina e ureia, respectivamente.

Em pacientes com LV foram analisados também os marcadores hematológicos, através de hematócrito, leucócitos, linfócitos e plaquetas. A análise dos resultados foi feita por meio da média dos valores, conforme a metodologia descrita por Mahajan et al. (2015).

Mediu-se fígado e o baço antes e após o tratamento, a fim de observar a regressão dessas vísceras em pacientes do grupo de estudo (GE-LVA e GE-LVAB).

### **4.3 Aspectos éticos**

O projeto de estudo foi submetido à apreciação da Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (ANEXO 1), registrado sob número 8886213.5.0000.5013, tendo sido aprovado para início em fevereiro de 2017.

Ao serem convidados a participar da pesquisa, os pacientes a partir de 6 anos e, quando menores de idade, seus representantes legais, eram informados sobre os objetivos do estudo. Àqueles que concordaram em participar, era solicitada a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLEs), também foram desenvolvidos termos de assentimento livre e esclarecido (TALEs) e TCLEs para os responsáveis (ANEXOS 2 e 3)conforme a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Foram considerados critérios de inclusão: pacientes diagnosticados com LT ou LV e com indicação de uso de Glucantime<sup>®</sup>. Foram considerados como critérios de exclusão: pacientes diagnosticados com LT ou LV e com indicação de outro quimioterápico, que não Glucantime<sup>®</sup>; pacientes diagnosticados com LT ou LV e com co-infecção com HIV.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Obtenção e caracterização físico-química do extrato de própolis vermelha de Alagoas**

O extrato bruto de PVA foi obtido, possuindo como características a coloração vinho, com aspecto viscoso e rendimento de 42,3%.Como mostra na tabela 4, os

parâmetros do extrato bruto de PVA estão de acordo com a Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001/ Anexo VII.

Tabela 4 - Requisitos mínimos do extrato de própolis de acordo com o MAPA e os parâmetros do extrato obtido

<b>Parâmetros</b>	<b>Extrato bruto</b>	<b>Extrato obtido</b>
<b>Extrato seco</b>	Mínimo de 11% (m/v)	15,64% (m/v)
<b>Ceras</b>	Máximo de 30% (m/m)	24% (m/m)
<b>Compostos fenólicos</b>	Mínimo de 0,50% (m/m)	19,47% (m/v)
<b>Compostos flavonoides</b>	Mínimo de 0,25% (m/m)	4,12% (m/v)
<b>Espectro de absorção UV visível</b>	Picos característicos de flavonoides	Picos característicos de flavonoides entre 200-400nm
<b>Atividade de oxidação</b>	Máximo de 22 seg	5 seg
<b>Teor alcóolico</b>	Máximo de 70°GL (v/v)	42°GL
<b>Acetato de chumbo</b>	Positivo	Positivo
<b>Hidróxido de sódio</b>	Positivo	Positivo
<b>Pesquisa de esporos</b>	Ausência	Ausência

Fonte: Autorial própria, 2019

Segundo a literatura, a composição da própolis vermelha de Alagoas varia bastante e possui muitos tipos de flavonoides e fenóis diferentes. A respeito dos flavonoides, segundo Alencar et al., (2007), mostrou resultado semelhante em torno de 43mg/g, e outros autores obtiveram o extrato com a PVA, mas com valores de flavonoides diferentes, como 140,2 mg/g (Hatano et al., 2012) e 32,91 mg/g (Righi et al., 2011), esses valores variam de acordo com a composição da própolis. E quanto aos fenóis, o estudo de Alencar et al., 2007, mostrou-se um resultado de 232mg/g, porém outros estudos com a PVA, apresentam valores bastante diferentes 2,57mg/g (257mg/100g) (Cabral et al., 2009), 151mg/g (Frezza et al., 2013), 292,7mg/g (Hatano et al., 2012) e 416,31mg/g (Righi et al., 2011).

## 5.2 Leishmaniose Tegumentar

Foram notificados em Alagoas desde 2017 até junho de 2019, 155 casos diagnosticados de LT de acordo com a SUVISA/SESAU, 2019. Dentre esses,

39 assinaram os termos de consentimento e permanecendo no estudo 20 pacientes, e 19 pacientes não foram incluídos por obedecerem algum dos critérios de exclusão.

Foi observado maior predominância dos casos de LT no sexo masculino, com um total de 14 casos (70%) e 6 casos (30%) do sexo feminino (Quadro 4). Tal predomínio também é observado em todo o Estado do Tocantins e no país em geral (BRASIL, 2017). Observa-se que a faixa etária com maior número de pacientes tanto do sexo feminino quanto do sexo masculino, corresponde a adultos (faixa de 20 a 59 anos) (Quadro 4). Essa incidência pode ser justificada pela possibilidade de maior exposição nestas idades e dessas ocupações, às áreas que oferecem maior risco de transmissão, seja pela moradia, tipo de trabalho ou lazer (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Os dados de gênero e idade foram comparáveis aos descritos no Estado de Sergipe (BARBOSA et al., 2019) e no Estado do Acre por Almeida et al., (2019). O detalhamento dos pacientes está disposto no quadro 4.

Quadro 4 - Detalhamento dos pacientes participantes do estudo

<b>Grupos</b>	<b>Nome</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Município de residência</b>	<b>Quantidade de coletas</b>
<b>GE-LT-A</b>	LTA1	19	M	União dos Palmares	4
	LTA2	29	M	Colônia Leopoldina	4
	LTA3	40	F	Colônia Leopoldina	3
	LTA4	27	M	São José da Laje	3
	LTA5	53	M	São José da Laje	3
	LTA6	29	M	União dos Palmares	3
	LTA7	22	M	União dos Palmares	3
	LTA8	57	M	São José da Laje	3
	LTA9	20	M	União dos Palmares	3
	LTA10	68	F	Colônia Leopoldina	3
<b>GE-LT-AB</b>	LTAB1	11	F	Palmeira dos Índios	3
	LTAB2	17	M	Joaquim Gomes	2
	LTAB3	59	M	Colônia Leopoldina	3
	LTAB4	18	F	São José da Laje	3
	LTAB5	44	M	Colônia Leopoldina	3
	LTAB6	49	M	Colônia Leopoldina	3
	LTAB7	44	M	União dos Palmares	3
	LTAB8	22	F	União dos Palmares	3

	LTAB9	31	F	Quebrangulo	3
	LTAB10	77	M	União dos Palmares	3

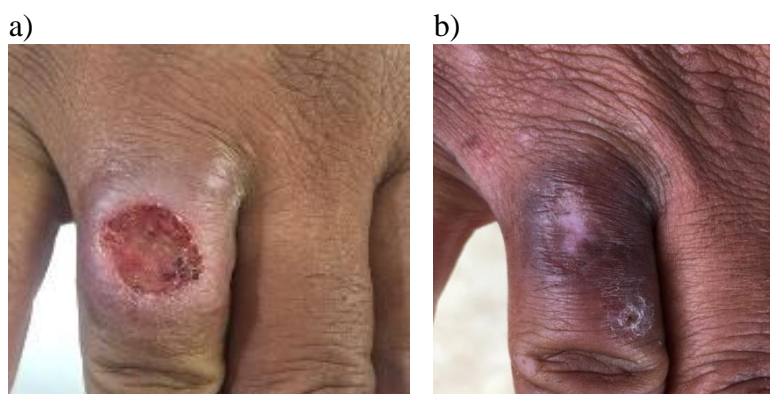
No que diz respeito aos municípios de residência, de acordo com o SINAN, no ano de 2017 tiveram maior número de casos, Viçosa e União dos Palmares, com 9 e 5 casos, respectivamente (DATASUS, 2018). Corroborando a esses dados, no atual estudo, União dos Palmares de destacou com o maior número de casos, em um total de 5. E discordando do estudo, não foram coletados pacientes de Viçosa. Em 2018, se destacaram os municípios de São José da Laje e Joaquim Gomes, ambos com 4 casos (DATASUS, 2019). O que se assemelha ao presente estudo, visto que foram coletados 4 pacientes residentes de São José da Laje e 1 paciente de Joaquim Gomes. Relacionando a região de Saúde, a 3ª e 4ª tem maior incidência de acordo (GIANS/SUVISA/SESAU-AL, 2017), o que confirmam com os municípios de residência dos pacientes incluídos no estudo, cujo todos são provenientes da 3ª R.S.

Estão apresentados também no quadro 4, a quantidade de coletas de cada paciente, as quais foram realizadas antes do tratamento (tempo 0), durante o tratamento (tempo 15) e após o tratamento (tempo 30), para as posteriores análises, como efeito protetor.

### 5.2.1 Cicatrização das lesões

A evolução do processo de cicatrização das lesões de cada um dos pacientes pode ser observado no apêndice 1, assim como os respectivos tempos de cicatrização. Com relação ao aspecto das lesões, tanto em lesões abertas de pacientes infectados, quanto em lesões cicatrizadas, eram bem características, conforme a descrição do Ministério da Saúde (2017) (Figura 9): lesões indolores, ulcerativas ou nodulares de formato ovalado ou arredondado com bordas bem delimitadas, produzindo lesões múltiplas ou únicas e a na lesão cicatrizada uma reepitelização e regressão total da infiltração.

Figura 9 - Foto do paciente L.A.B. incluído no presente estudo diagnosticado com LTA. (a) lesão cutânea no dedo anelar esquerdo (b) lesão cicatrizada



Fonte: Autoria própria, 2019.

A média do tamanho da lesão em ambos os grupos é apresentado na tabela 5, assim como a e a mediana dos dias de cicatrização.

Tabela 5–Média e mediana do tempo de cicatrização dos grupos GE-LTA e GE-LTAB

	<b>Tempo de cicatrização (dias)</b>	
	<b>GE-LTA± dp</b>	<b>GE-LTAB± dp</b>
<b>Média</b>	63,6± 10,57	54,1± 13,26
<b>Mediana</b>	65	58

DP- desvio padrão

Ao fazer uma comparação com o grupo que utilizou apenas o glucantime (GE-LTA), foi possível perceber que houve uma redução significativa no tempo de cicatrização das lesões dos pacientes que fizeram o uso da co-terapia(GE-LTAB), em torno de 54 dias com uma mediana de 58 dias. Assim, seja pelo potencial cicatrizante, seja pela atividade leishmanicida (e/ou), os resultados sugerem que os ativos estão contribuindo para a cicatrização das lesões.O que pode ser explicado devido a presença de flavonoides na PVA, responsáveis pela aceleraçãoo processo de regeneração tissular e oferece recuperação dos tecidos lesionados por se tratar de um agente antimicrobiano natural (BARBOSA et al., 2009) e segundo Almeida e colaboradores (2013), os flavonoides também diminuem a gravidade inflamatória, aumentando os níveis de miofibroblastos, induzindo a substituição mais precoce do colágeno tipo III pelo tipo I.

### 5.2.2 Efeito protetor

Afim de avaliar o dano hepático, foram analisados os marcadores plasmáticos AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase), além dos biomarcadores da função renal ureia e creatinina, antes, durante e após o tratamento (Apêndice 2). As dosagens observadas no grupo GE-LTA estavam ligeiramente alteradas, mas não contraindicam o uso do Glucantime<sup>®</sup>, e no grupo GE-LTAB os marcadores estudados se mantiveram dentro dos limites de referência.

Resultado semelhante foi observado em um estudo por Fernandes (2019), sendo uma pequena alteração das enzimas hepáticas e renais após uso do Glucantime em pacientes de LT, onde todos esses casos estudados foram classificados como de intensidade 1, considerada alteração transitória e não exigiu suspensão do tratamento. Já em um estudo realizado por Neves; Caldas; Sampaio, (2009), ao utilizar uma dose maior (20 mg Sb (v) / kg / dia), foi observado elevações hepáticas e renais, levando a suspensão do tratamento, o que não foi encontrado no presente estudo.

Quadro 5 - Média dos valores obtidos de marcadores plasmáticos dos pacientes

	GE-LTA			GE-LTAB			Valores normais
	Antes	Durante	Após	Antes	Durante	Após	
<b>AST</b>	24,5	51,7	49,8	28	40	38	12-42 UI/L
<b>ALT</b>	15	45	34	25	37,2	15,0	8-42 UI/L
<b>Ureia</b>	25	39	49,2	23,5	37	35	15-40mg/dL
<b>Creatinina</b>	0,78	0,93	0,75	0,83	0,89	0,75	0,3-1,3mg/dL

Fonte: Autoria própria, 2019.

### 5.3 Leishmaniose Visceral

No período de 2017 até junho de 2019, foram notificados em Alagoas 327 casos diagnosticados de LV (SUvisa/SESAU, 2019). Desde o início do estudo até o fim do relatório foram captados 141 pacientes infectados com LV e se direcionaram ao Hospital Escola Dr. Hélio Auto (HEHA), onde 121 não entraram no estudo por obedecerem algum critério de exclusão. Destes, apenas 20 pacientes retornaram ao ambulatório e se mantiveram com o mesmo tratamento durante o período, sendo esses incluídos no estudo, no qual todos assinaram os TCLEs ou TALEs.

Segundo o Ministério da Saúde (2007), há maior incidência de LV em crianças abaixo de 10 anos e pessoas do sexo masculino, o que ocorreu neste trabalho, representando 40% e 70% dos pacientes, respectivamente. A maior susceptibilidade das crianças em manifestar a doença está relacionada com a imaturidade imunológica celular, que geralmente é agravada pelas baixas condições de alimentação e nutrição, o



mesmo perfil ocorreu em um estudo realizado por Silva e colaboradores (2017), que a susceptibilidade desta faixa etária se deve, possivelmente, ao contato mais frequente das crianças com animais, em comparação com os adultos. O detalhamento dos pacientes está descrito no Quadro 6.

Quadro 6 - Detalhamento dos pacientes participantes do estudo

<b>Grupo</b>	<b>Sigla</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Município de residência</b>	<b>Quantidade de coletas</b>
<b>GE-LV-A</b>	LVA1	26	M	Santana do Ipanema	3
	LVA2	17	M	Coruripe	3
	LVA3	23	M	Poço das Trincheiras	3
	LVA4	07	F	Santana do Ipanema	3
	LVA5	07	M	Senador Rui Palmeira	3
	LVA6	07	M	Traipu	3
	LVA7	08	M	São José da Tapera	3
	LVA8	60	M	Quebrangulo	3
	LVA9	40	M	Estrela de Alagoas	3
	LVA10	49	M	Estrela de Alagoas	3
<b>GE-LV-AB</b>	LVAB1	59	M	Ouro Branco	4
	LVAB2	06	F	Olivença	3
	LVAB3	17	M	Arapiraca	3
	LVAB4	06	M	Arapiraca	4
	LVAB5	11	F	São José da Tapera	4
	LVAB6	07	F	Estrela de Alagoas	3
	LVAB7	17	M	Batalha	3
	LVAB8	13	F	Lagoa da Canoa	3
	LVAB9	08	M	Palmeira dos Índios	3
	LVAB10	60	M	São José da Tapera	3

Fonte: Autoria própria, 2019.

Epidemiologicamente, as Regiões de Saúde (R.S.) de maior prevalência de casos são a 7ª R.S., 8ª R.S. e 9ª R.S.

A ocorrência de casos confirmados de leishmaniose visceral no estado em 2018 foi verificada em 30 municípios, em sua maioria na 7ª, 8ª, 9ª e 10ª regiões de saúde (GIANS/SUVISA/SESAU-AL, 2017), nos quais a maioria dos municípios dos pacientes

captados por nosso estudo faz parte, sendo estes Santana do Ipanema (9<sup>a</sup>R.S.), Poço das Trincheiras (9<sup>a</sup>R.S.), Senador Rui Palmeira (9<sup>a</sup>R.S.), São José da Tapera (9<sup>a</sup> R.S.), Ouro Branco (9<sup>a</sup> R.S.), Olivença (9<sup>a</sup>R.S.), Estrela de Alagoas (8<sup>a</sup> R.S.), Palmeiras dos Índios (8<sup>a</sup>R.S.), Traipu (7<sup>a</sup>RS), Arapiraca (7<sup>a</sup>R.S.), Batalha (7<sup>a</sup>R.S.) e Lagoa da Canoa (7<sup>a</sup>R.S.). Além disso, 15 dos 20 pacientes participantes advêm de municípios endêmicos para LV (Santana do Ipanema, Coruripe, Poço das Trincheiras, Senador Rui Palmeira, Traipu, Estrela de Alagoas, Ouro Branco, Olivença, Arapiraca, Batalha e Palmeira dos Índios), porém também há aparecimento de casos (5) em locais não endêmicos (São José da Tapera, Lagoa da Canoa e Quebrangulo), que demonstra a saída do vetor de locais prevalentes para outros, o que vem acontecendo com maior frequência atualmente e possibilita maior transmissão do parasita (GIANS/SUVISA/SESAU-AL, 2017).

### 5.3.1 Efeito protetor

Com o intuito de avaliar o dano hepático, foram analisados os marcadores plasmáticos AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase), além dos biomarcadores da função renal ureia e creatinina, antes, durante e após o tratamento (Figura 12). onde temos que para os pacientes do GELV-A, a média dos valores das transaminases se mantiveram acima das taxas de normalidade durante e após o tratamento, como visto por An e colaboradores (2019), que observou aumento significativo dessas enzimas com uso de Glucantime<sup>®</sup>, explicada por este apresentar hepatotoxicidade descrita em literatura (KATO et al., 2014). Quando analisado os níveis plasmáticos das transaminases nos pacientes do GE-LVAB, foi observado que antes do tratamento encontrava-se dentro dos valores de referência, o que foi mantido após tratamento, o que pode estar associada indicando ação hepatoprotetora que a própolis exerce no tratamento de leishmaniose (SILVA et al., 2016).

A fim de avaliar a função renal, foram medidos os níveis plasmáticos de creatinina e ureia, dispostos no apêndice 3. Observou-se que a média dos valores obtidos dos pacientes de ambos os grupos de estudo se manteve dentro dos valores de referência.

Quadro 7 - Média dos valores obtidos dos marcadores plasmáticos dos pacientes

	GE-LVA			GE-LVAB			Valores normais
	Antes	Durante	Após	Antes	Durante	Após	
<b>AST</b>	59,6	59,9	47,2	40,4	42,5	40,3	12-42 UI/L
<b>ALT</b>	31,5	56,1	55,0	34	48,2	40,5	8-42 UI/L
<b>Ureia</b>	25,5	24,5	24,4	26,1	28,8	25,1	15-40mg/dL
<b>Creatinina</b>	0,80	0,73	0,83	0,74	0,81	0,89	0,3-1,3mg/dL

Fonte: Aatoria própria, 2019

Como os marcadores plasmáticos não mostraram diferença, resolveu-se avaliar o hemograma desses pacientes. Ao analisar alterações hematológicas, como anemia, trombocitopenia, leucopenia e linfocitose, característico de LV (NASCIMENTO E MEDEIROS, 2010), foram avaliados alguns marcadores, sendo estes hematócrito, leucócitos, linfócitos e plaquetas, dispostos no apêndice 3. O primeiro desses avalia a porcentagem de hemácias em determinado volume de sangue, que neste estudo demonstrou-se abaixo das taxas normais nos pacientes do GE-LV-A e GE-LV-AB. Esses dados demonstram a anemia causada pela doença, que, quando grave, compõem uma das principais causas de morte por LV (MOREIRA, 2012). Os marcadores hematológicos apresentaram resultados comparáveis nos dois grupos de estudo.

A leucopenia também característica da doença foi avaliada por leucócitos totais e linfócitos. Os valores demonstraram leucopenia nos pacientes dos dois grupos, mas foi visto que conforme tratamento houve aumento das taxas. Esse efeito foi observado por Morizot et al. (2016), onde pacientes imunossuprimidos conseguiram aumentar e normalizar quantidade de leucócitos após terapia com antimonio de meglumina, incluindo nesses dados pacientes infantis. Já os linfócitos em termos percentuais estavam em valores normais e mantiveram-se assim com o tratamento, achado comum em pacientes com LV (MOREIRA, 2012). Isso demonstra que a leucopenia adveio de outros componentes do sistema imune, como neutrófilos, sendo a neutropenia uma das mais frequentes alterações, como consequência da depressão medular, sequestro esplênico hiperesplenismo, hemofagocitose e reações de autoimunes (OLIVEIRA et al., 2010).

Avaliando o número de plaquetas antes do tratamento estava abaixo do normal para os pacientes do GE-LV-A e GE-LV-AB, caracterizando a trombocitopenia, achado frequente em paciente com LV, que facilita fenômenos hemorrágicos e nos casos graves (contagem menor que  $40\text{mil}/\text{mm}^3$ ) são letais (SARKARI et al., 2016). Conforme

tratados, os valores dos pacientes subiram para valores normais, mostrando que ambos os tipos de terapias foram eficientes para isso.

Quadro 8 - Média dos valores obtidos de marcadores hematológicos dos pacientes

	GE-LVA			GE-LVAB			Valores normais
	Antes	Durante	Após	Antes	Durante	Após	
<b>Hematócrito</b>	25,6	26,8	28,6	25,8	27,3	28,3	36-54%
<b>Leucócitos totais</b>	2362,8	3464	4227	2989	3233	3896	4000-10000mm <sup>3</sup>
<b>Linfócitos</b>	45,8	42,2	41,3	43,3	39,5	40,3	25-50%
<b>Plaquetas</b>	100,3	184,8	203,4	107,4	157,7	204,9	150-450mil/mm <sup>3</sup>

Fonte: Autoria própria, 2019.

A hepatoesplenomegalia é uma das características mais comuns na apresentação clínica de pacientes acometidos por LV, também presente nos pacientes incluídos neste estudo. A diminuição destes órgãos ao tamanho normal com o tratamento foi avaliada e os dados estão dispostos no apêndice 5. Para o GE-LV-A, foi observado regressão do fígado e baço na maioria dos casos, porém o paciente LVA8 não regrediu totalmente o baço e o LVA10 não regrediu totalmente baço e fígado, ficando com aumento em torno de 2cm. A diminuição com a terapia é prevista e descrita na literatura, como no estudo de Morizot et al. (2016), em que houve diminuição esplênica de 4cm com o tratamento utilizando exclusivamente o Glucantime®.

Já para o GE-LV-AB, foi observada regressão de fígado e baço em todos os pacientes, com exceção do LVAB1. Porém este paciente possuía hepatomegalia maciça (>19cm de aumento no volume do fígado) e teve regressão total desta. Isso revela alta eficiência da co-terapia com PVA no tratamento da hepatomegalia e esplenomegalia. Este melhor resultado condiz com o descrito na literatura, em que a própolis atua reduzindo a inflamação no fígado e baço, diminuindo os níveis de enzimas, deposição de fibras de colágeno, redução na produção de citocinas pró-inflamatórias e na reversão da hepatoesplenomegalia (SILVA et al., 2016).

A redução percentual desses órgãos ao término do tratamento está disposta na tabela 6, incluindo média e mediana. Segundo Pedrosa (2004), o baço é maior que o fígado, porém com o tratamento, a regressão do tamanho do baço ocorre mais precoce e rapidamente que a do fígado. Vale ressaltar que nos pacientes que fizeram o uso da própolis ocorreu o inverso, no fígado a redução foi mais acentuada, sendo 100%, diferente do baço que no término do tratamento apresentou redução de 92,1%. Em

contrapartida, os pacientes do grupo LVA, apresentaram redução do fígado de 89,3% e do baço em 91,1%.

Tabela 6 – Média, desvio padrão, mediana e redução percentual do tamanho médio do baço e do fígado na internação e na alta do tratamento.

Grupos	Órgãos	Internação (cm)		Alta (cm)		% de redução*
		Média ± dp	Mediana	Média± dp	Mediana	
<b>LVA</b>	BAÇO	5,6 ± 3,30	4	0,5 ± 1,08	0	91,1
	FIGADO	4,0 ± 2,94	3	0,6 ± 1,26	0	89,3
<b>LVAB</b>	BAÇO	5,1 ± 3,1	4	0,4 ± 1,26	0	92,1
	FIGADO	7,6 ± 5,58	6	0 ± 0	0	100

\*100  $\frac{\text{(média do tamanho do órgão ao término do tratamento x 100)}}{\text{média do tamanho do órgão antes do tratamento}}$

DP- Desvio padrão

## 6 CONCLUSÃO

O uso do extrato de Própolis Vermelha de Alagoas(PVA) em co-terapia com glucantime em pacientes de LT, foi capaz de reduzir o tempo de cicatrização das lesões quando comparada ao grupo controle, evidenciando uma possível ação cicatrizante da PVA.

Embora não houve diferença significativa dos marcadores plasmáticos e hematológicos nos pacientes de LV, com o uso da PVA conseguiu acelerar o processo de regressão das vísceras, principalmente o fígado, mostrando ser eficaz no tratamento da hepatoesplenomegalia.

A própolis representa um grande potencial como uma alternativa a ser utilizada de forma complementar nas terapias já existentes para o tratamento de diversas doenças, dentre elas a leishmaniose, no entanto, mais estudos deverão ser conduzidos para maiores elucidções de seus efeitos em relação a atividade leishmanicida.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P. F.; RODRIGUES, R. K. Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão. **Revista Unimontes Científica**, v. 19, n. 1, p. 191-204, 2017.
- AKHOUNDI, M.; KUHLS, K.; CANNET, A.; VOTÝPKA, J.; MARTY, P.; DELAUNAY, P.; SERENO, D.A. Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 6, 2016.
- ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA-NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology, Lausanne**, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.
- ALENCAR, S.M.; OLDONI, T.L.C.; CASTRO, M.L.; CABRAL, I.S.R.; COSTA-NETO, C.M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **J. Ethnopharmacol**, v. 113, p. 278-283, 2007.
- ALMEIDA, E.B.; CARDOSO, J.C.; LIMA, A. K.; OLIVEIRA, N.L.; PONTES-FILHO, N.T.; LIMA, S. O.; SOUZA, I.C.L.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R.L.C. The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. **J. Ethnopharmacol**, v. 147, p. 419–425, 2013.
- ALVAR, J.; AMELA, C.; MOLINA, R.; In: El perro como reservatório de leishmaniosis. **Medicina Veterinária**, v. 12, n. 7, p. 431-437, 1995.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.
- ANSARI, Y.; DIKHIT, M.R.; CHANDRA-SAHOO, G; ALI, V.; DAS, P. Recent advancement and treatment of leishmaniasis based on pharmacoinformatics approach: Current and future outlook. **Gene Reports**, v. 9, 2017, p. 86-97.
- ARONSON, N. E; MAGILL, A. J. 93 - General Principles. **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases (Tenth Edition)**, p. 696-698, 2020.
- AYRES, D.C.; MARCUCCI, M.C.; GIORGIO, S. Effects of Brazilian propolis in *Leishmania amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.102, n. 2, p. 215-220, 2007.
- BAIOCCO, P. et al. Molecular basis of antimony treatment in leishmaniasis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 2603–2612, 2009.
- BANKOVA, V.S. Recent trends and important developments in propolis research. **JEvide Based Complement Altern Med**, 2, 29-32, 2005.

BARBOSA, M. T. A. et al. PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM SERGIPE: Perfil epidemiológico e assistência de enfermagem. **Congresso Internacional de Enfermagem**, v. 1, n. 1, 2019.

BARBOSA, M. H. et al. Therapeutic properties of propolis for treatment of skin lesions. **Acta paul. enferm.** vol.22 no.3 São Paulo May/June 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 1ed. Brasília: Ed. Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar\\_americana.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar_americana.pdf)> Acesso em: 23 ago. 2019.

BUENO-SILVA, B. et al. Main pathways of action of Brazilian red propolis on the modulation of neutrophils migration in the inflammatory process. *Phytomedicine*, v. 23, p. 1583–1590, 2016.

CABRAL, I. S. R. Isolamento e identificação de compostos com atividade antibacteriana de própolis vermelha Brasileira. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 94 p. **Dissertação de Mestrado em Ciências**, 2008.

COPELAND, N. K.; ARONSON, N. E. Leishmaniose: atualizações de tratamento e revisão de diretrizes de prática clínica. **Curr Opin Infect Dis**, v. 28, n. 5, p. 426-37, 2015.

CORREA, F. R. S. et al. Brazilian red propolis improves cutaneous wound healing suppressing inflammation-associated transcription factor NFκB. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 86, p. 162-71, 2017.

CRISPIM, B. A.; SILVA, D. B. S.; BANARI, A. L.; SENO, L. O.; GRISOLIA, A. B. Discriminação alélica em ovinos naturalizados do Pantanal Sul-Matogrossense por meio de marcadores microssatélites. **J Selva Andina Res Soc**, v. 3, p. 3-13, 2012.

DANTAS, T. F.; BRANDÃO, F. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 353-356, 2006.

DAS, A.; KARTHICK, M.; DWIVEDI, S.; BANERJEE, I.; MAHAPATRA, T.; SRIKANTIAH, S.; CHAUDHURI, I. Epidemiologic correlates of mortality among symptomatic visceral leishmaniasis cases: findings from situation assessment in high endemic foci in India. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, 2016.

DATASUS. **Ministério da Saúde**. Leishmaniose tegumentar americana - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação- Brasil, 2019. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/ltabr.def>>. Acesso em: 23 ago. 2019.

DATASUS. **Ministério da Saúde**. Leishmaniose Visceral - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação- Brasil, 2019.



Disponivelem:

<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>>. Acessoem: 23 ago. 2019.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis – chemical composition and botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Oxford, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2007.

DAWIT, G.; GIRMA, Z.; SIMENEW, K. A review on biology, epidemiology and public health significance of leishmaniasis. *J. Bacteriol. Parasitol*, v. 4, p. 1-7, 2013.

DE MENDONÇA, I.C.G. et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complementary & Alternative Medicine*. v. 15, n. 357, p. 1-12, 2015.

DO NASCIMENTO, T. G. et al. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. *Nanoscale research letters*, v. 11, n. 1, p. 301, 2016.

DOGANYIGIT, Z.; KÜP, F.O.; SILICI, S.; DENIZ, K.; YAKAN, B.; ATAYOUGLU, T. Protective effects of propolis on female rats' histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia. *Phytomedicine* **20**:7, p. 632–639, 2013.

DORNELAS, C. et al. Composição farmacêutica semissólida de extrato de Própolis Vermelha de Alagoas (PVA) combinada ao antimoniato de meglumina injetável e seu uso no tratamento da Leishmaniose Tegumentar. **Patente: Privilégio de Inovação. INPI**. Depósito: 17/12/2015.

FERREIRA, F.M.; CASTRO, R.A.O.; BATISTA, M.A.; ROSSI, F.M.O.; SILVEIRA-LEMOES, D.; FRÉZARD, F.; MOURA, S.A.L.; REZENDE, S.A. Association of water extract of Green propolis and liposomal meglumine antimoniate in the treatment of experimental visceral leishmaniasis. *Parasitology Research*, p. 533-543, 2014.

FRANÇA, E. L.; MANDADOR, M. N.; FRANÇA, J. L.; BOTELHO, A. C. F.; FERRARI, C. K. B.; FRANÇA, A. C. F. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana no município de Juína, Mato Grosso, Brasil. *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 19, n. 3, p. 103-107, 2009.

FREIRES, I.A.; ALENCAR, S.M.; ROSALEN, P.L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. *Eur J Med Chem*, v. 110, p. 267-79, 2016.

FRÉZARD F., DEMICHELI C., RIBEIRO, R. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. *Molecules*. v. 14, p. 2317–2336, 2009.

GALGAMUWA, L. S.; DHARMARATNE, S. D.; IDDAWELA, D. Leishmaniasis in Sri Lanka: spatial distribution and seasonal variations from 2009 to 2016. *Parasites & Vectors*. V. 11, n. 60, p. , 2018.

GÓMEZ, A. M. et al. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 41, p. 1220-1234, 2006.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, 2012, p. 293-307.

GRIENSVEN, J. V.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 309-322, 2012.

HARHAY, M.O. et al. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. **Trends Parasitol.** v. 27. p. 403-409, 2011.

JAIN, K.; JAIN, N.K. Vaccines for visceral leishmaniasis: A review. **Journal of Immunological Methods**, v. 422, 2015, p. 1-12.

JUNIOR, W.B.; MIRANDA, E.O.; ALVINO, V.; ARAUJO, B.; ARAUJO, D.W.; SILVA, Z. Porfírio Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, **Brasil Semina**, v. 33, p. 03-10, 2012.

KATO, K. C. et al. Hepatotoxicity of Pentavalent Antimonial Drug: Possible Role of Residual Sb(III) and Protective Effect of Ascorbic Acid. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 481–488, 2014.

KAYE, P., SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. **Nature Reviews/Microbiology**. v. 9, p. 604-615, 2011.

KEDZIERSKI, L.; SAKTHIANANDESWAREN, U.M.; CURTIS, J.M.; ANDREWS, P.C.; SUCATA, P.C.; KEDZIERSKA, K. Leishmaniasis: current treatment and prospects for new drugs and vaccines. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 599-614, 2009.

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

LUSTOSA, S. R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, n. 3, p. 447–454, 2008.

MACHADO, G. M.; LEON, L. L.; DE CASTRO, S. L. Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of leishmania. *Mem I Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 102, 1, 73–77, 2007.

MAHAJAN R., DAS P., ISAAKIDIS P., SUNYOTO T., SAGILI K., LIMA M., ET AL. Combination treatment for visceral leishmaniasis patients coinfecting with human immunodeficiency virus in India. **Clin Infect Dis**, v. 61, p. 1255–1262, 2015.

MARTINS, A. L. G. P. et al. Leishmaniose mucocutânea: dificuldade diagnóstica em lesão crônica. **Hansenologia Internationalis**, v. 36, n. 1, 2011.

MCDOWELL, M. A.; MAROVICH, M.; LIRA, R.; BRAUN, M.; SACKS, D. Leishmania priming of human dendritic cells for CD40 ligand-induced interleukin-12p70 secretion is strain and species dependent. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 8, 2002, p. 3994–4001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006. Manual de Vigilância da Leishmaniose Visceral. Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_visceral.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf)>. Acesso em: 8 out. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf)>. Acesso em: 7 agost. 2019.

MOOKERJEE BASU, J. et al. Sodium antimony gluconate induces generation of reactive oxygen species and nitric oxide via phosphoinositide 3-kinase and mitogen-activated protein kinase activation in Leishmania donovani-infected macrophages. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 50, p. 1788–1797, 2006.

MORAIS, R.C.S. **Aplicabilidade da técnica de pcr em tempo real para caracterização de espécies de leishmania**. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde). Centro De Pesquisas Aggeu Magalhães – CpqAM, Recife, 2015.

MOREIRA, E. A. Aspectos hematológicos de pacientes com leishmaniose visceral. Academia de Ciência e Tecnologia, 2012.

NASCIMENTO, E. L. T; MEDEIROS, I. M. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: TAVARES, W.; MARINHO, L. A. C. M. Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

NETO, V. A.; AMATO, V. S.; GRYSCHKEK, R. C. B. **Parasitologia**: uma abordagem clínica. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

NEVES, D. P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. **Parasitologia humana**. 12. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2011.

NORGARD, O.; KVALOY, J. T. et al. Error propagation in relative real-time reverse transcription polymerase chain reaction quantification models: The balance between accuracy and precision. **Analytical Biochemistry**. v. 356, p. 182-193, 2006.

ODA, J.M. et al. Ação do extrato de própolis nas leishmanioses. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 32, n. 1, p. 111–121, 2011.

OLDONI, T. L. C., CABRAL, I. S. R., D'ARCE, M. A. B. R., ROSALEN, P. L., IKEGAKI, M., NASCIMENTO, A. M., & ALENCAR, S. M. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Separation and Purification Technology**, v. 77, n. 2, p. 208-213, 2011.

- OMS. 2016.  
Disponível em <<http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>>.  
Acesso: 23 de ago. 2019.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. WHO Technical Report Series. 2012.  
Disponível em: <[http://www.who.int/tdr/publications/research\\_priorities/en/](http://www.who.int/tdr/publications/research_priorities/en/)>. Acesso em: 12 de agosto de 2019.
- ORSI, R.O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, S.A.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins** **6**, p.205-219, 2000.
- ORYAN, A.; M.AKBARI. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 925-932, 2016.
- PARK, Y.K.; KOO, M.H.; ABREU, J.A.S.; IKEGAKI, M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current Microbiology** **36**, p.24-28, 1998.
- PARK, Y.K., ALENCAR, S.M., AGUIAR, C.L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 2502–2506, 2002.
- PEDROSA, C. M. S.; ROCHA, E. M. M. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, **Brasil. Rev Soc Bras Med Trop**, v.37, p.300-304, 2004.
- PONTIN, K. et al. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. **Parasitol Res** **103**, 487-492, 2008.
- REGUEIRA NETO, M. S. ; TINTINO, S.R. ; Rolón, Miriam ; CORONEL, C. ; Vega, Celeste ; BALBINO, VALDIR Q. Antitrypanosomal, antileishmanial and cytotoxic activities of Brazilian red propolis and plant resin of *Dalbergia ecastaphyllum* (L) Taub. **FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY**, v. 119, p. 215-221, 2018.
- REGUEIRA, M. S. et al. Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. **Food and Chemical Toxicology**, 2017.
- REITHINGER, R.; DAVIES, C. R. Canine leishmaniasis: novel strategies for control. The 2nd International Forum on Canine leishmaniasis, Sevilla. **Trends in Parasitology**, v. 18, n.7, p. 289–290, 2002.
- RIGHI, A.A., ALVES, T.R., NEGRI, G., MARQUES, L.M., BREYER, H., SALATINO, A., Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **J. Sci. Food Agric**, v. 91, p. 2363–2370, 2011.

ROCHA, T. J. M.; BARBOSA, A. C. A.; SANTANA, E. P. C.; CALHEIROS, C. M. L. Aspectos epidemiológicos dos casos humanos confirmados de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Alagoas, Brasil. **Rev Pan-AmazSaude**, v. 6 n.4, 2015.

ROSENTHAL, E.; MARTY, P. Recent understanding in the treatment of visceral leishmaniasis. **J Postgrad Med**, v. 49, n. 1, p. 61, 2003.

SALAM, N.; AL-SHAGHA, W. M.; AZZI, A. Leishmaniasis in the Middle East: Incidence and Epidemiology. *Plos Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 10, 2014.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 2<sup>a</sup> ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SFORCIN, J.M.; FERNANDES JUNIOR., A.; LOPES , C.A.; BANKOVA, V.; FUNARI, S.R. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 73, 1-2, p.243-249, 2000.

SILVA et al. Propolis reduces *Leishmania amazonensis*-induced inflammation in the liver of BALB/c mice. *Parasitology Research*. v. 115, n. 4, p. 1557–1566, 2016.

SILVA et al. Epidemiology of the visceral leishmaniasis in children in the city of Montes Claros. *Revista Cubana de Enfermeria* v. 33, n 4, 2017.

SILVA, B.B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v.5, n.3, p. 313–316, 2007.

SILVEIRA, M. M. X. Estudo de um derivado de aminoquinolina: citotoxicidade em macrófagos, potencial efeito em *Leishmania amazonensis* mitocôndria. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 20 p. **Trabalho de Conclusão de curso**, 2016.

SOUSA, N. A. et al. Perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose visceral em Sobral-CE de 2011 a 2015. **SANARE**, v.17, n.01, p.51-57, 2018.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. **Expert Opin Pharmacother**, v. 16, n. 2, p. 237-252, 2015.

TEMEL, A. B.; MURRELL, D. F.; UZUN. S. Cutaneous leishmaniasis: A neglected disfiguring disease for women. **International Journal of Women's Dermatology**, v. 5, n. 3, p. 158-165, 2019.

TIRONI, F. et al. Plantar ulcer as an atypical manifestation of cutaneous leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2021.

UZUN, S. et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous leishmaniasis in Turkey. **Tropical Medicine Rounds**, v. 57, p. 973-982, 2018.

UZUN, S.; BILGIC-TEMEL, A.; MURRELL, D. F. Cutaneous leishmaniasis: A neglected disfiguring disease for women. **International Journal of Women's Dermatology**, v. 5, n. 3, 2019.

VAN GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral leishmaniasis: recent advances in diagnostics and treatment regimens. **Infect Dis Clin N Am**, v. 33, p. 79-99, 2019.

WAGH, V. D.; D., V. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences*, v. 2013, p. 308249, 2013.

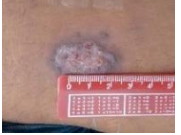







WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis -Fact sheet, Updated. 2018.













ZABAIYOU, N. et al. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *ChemPhysLipids*, 2017.

ZAHRAEI-RAMAZANI, A.; WANNIGAMA, D.L.; **Phlebotominae sand flies - Morphological and Molecular approaches: Morphological and Genotypic Variations in the Population of the Subgenus *Adlerius* (Diptera:Psychodidae: Phlebotominae)**. 1. ed. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016.

ZHANG, K.; SHOWALTER, M.; REVOLLO, J.; HSU, F.F.; TURCO, J.; BEVERLEY, S.M. Sphingolipids are essential for differentiation but not growth in *Leishmania*. **The EMBO Journal**, v. 22, n. 22, p. 6016–6026, 2003.











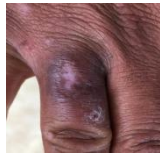
**APÊNDICE 1-** Características das lesões de LT dos pacientes incluídos no estudo
















Grupos	Siglas	Local da lesão	Antes do tratamento	Durante o tratamento	Após o tratamento	Tempo de cicatrização das lesões	Média do tempo de cicatrização
<b>GE-LTA</b>	LTA1	Perna esquerda	04/07/2017	01/08/2017	21/08/2017	48 dias	n= 10 Média: 63,6
			20mm 	10mm 	L. fechada 		
	LTA2	Perna direita	13/06/2017	03/07/2017	15/08/2017	84 dias	
			25mm 	20mm 	L. fechada 		
	LTA3	Perna esquerda	07/05/2019	04/06/2019	09/07/2019	64 dias	
			20mm 	15mm 	L. fechada 		
	LTA4	Antebraço	30/04/2019	28/05/2019	05/07/2019	67 dias	

		direito	20mm 	15mm 	L. fechada 	
	LTA5	Perna esquerda	30/04/2019 20mm 	28/05/2019 15mm 	05/07/2019 L. fechada 	67 dias
	LTA6	Braço esquerdo	14/05/2019 10mm 	04/06/2019 10mm 	16/07/2019 L. fechada 	64 dias
	LTA7	Pé esquerdo	11/06/2019 12mm 	25/07/2019 10mm 	16/08/2019 L. fechada 	67 dias
	LTA8	Braço direito	16/04/2019	14/05/2019	04/06/2019	49



			12mm 	10mm 	L. fechada 		
	LTA9	Perna direita	02/07/2019 22mm 	06/08/2019 13mm 	10/09/2019 L. fechada 	70	
	LTA10	Braço esquerdo	09/07/2019 5mm 	13/08/2019 3mm 	03/09/2019 L. fechada 	56	
GE-LTAB	LTAB1	Face (Bochecha)	18/09/2017 15mm 	09/10/2017 15mm 	27/11/2017 L. fechada 	67 dias	
			LTAB2	Frontal	16/01/2018 15mm		06/02/2018 L. fechada

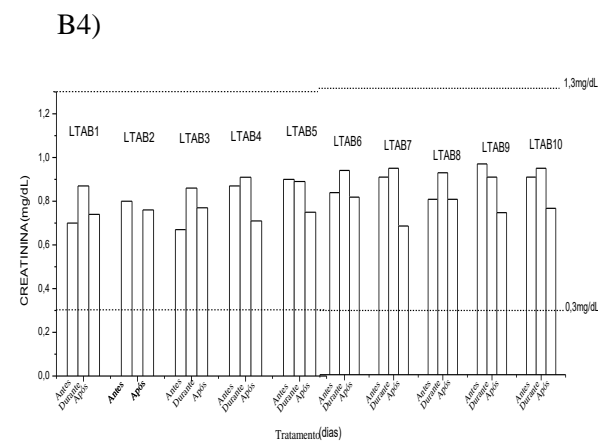
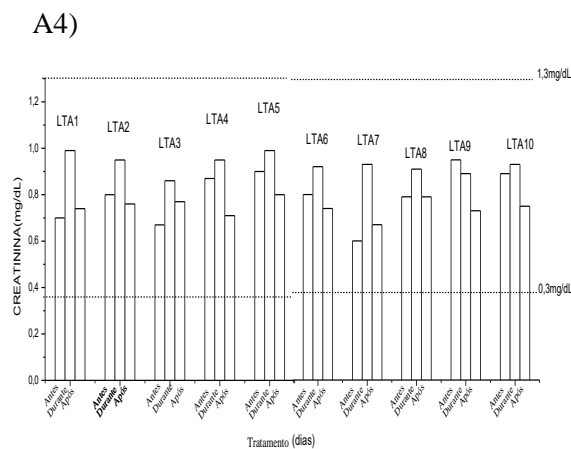
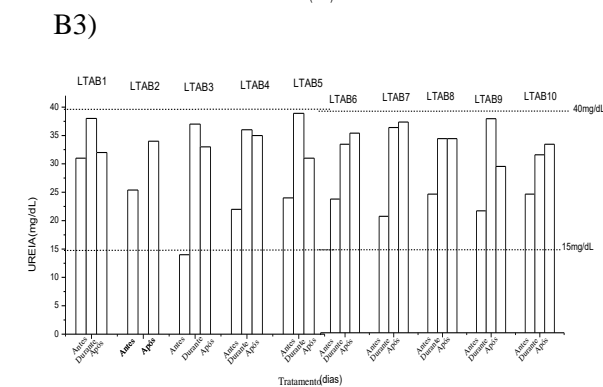
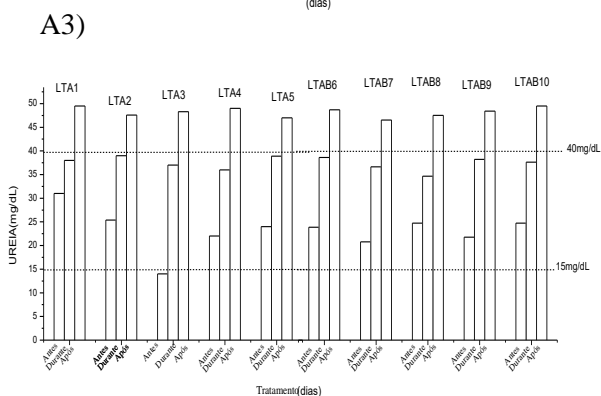
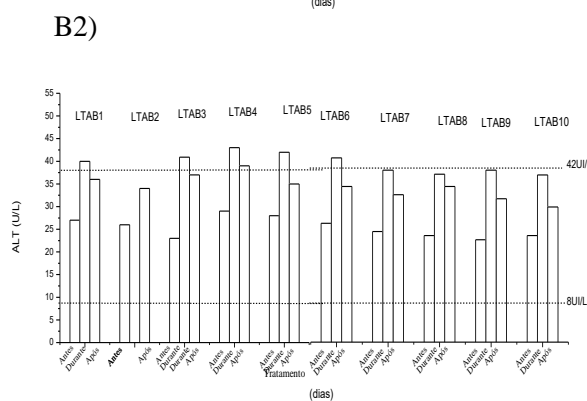
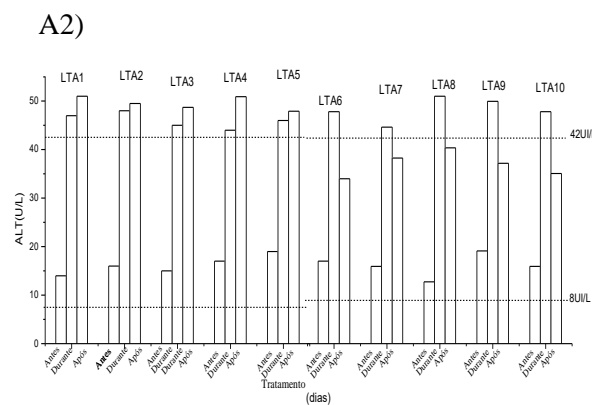
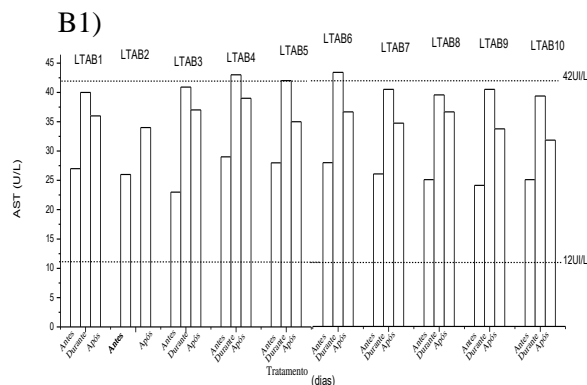
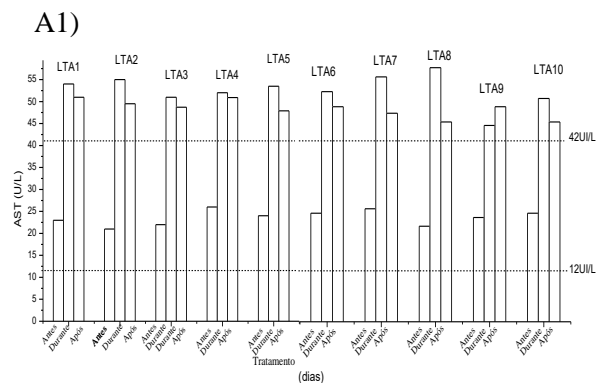
							n= 10
							Média: 54,1
LTAB3	Costas	23/07/2018	06/08/2018	11/09/2018			
		15mm	5mm	L. fechada			
						51 dias	
LTAB4	Braço esquerdo	14/05/2019	11/06/2019	16/07/2019			
		10mm	7mm	L. fechada			
						54 dias	
LTAB5	Dedo anelar da mão direita	07/05/2019	01/06/2019	02/07/2019			
		10mm	5mm	L. fechada			
						58 dias	
LTAB6	Perna	07/05/2019	01/06/2019	02/07/2019			
						58 dias	

	esquerda	50mm 	20mm 	L. fechada 	
LTAB7	Braço direito	14/05/2019 20mm 	01/06/2019 18mm 	16/07/2019 L. fechada 	63 dias
		14/05/2019 5mm 	03/06/2019 4mm 	02/07/2019 L. fechada 	
LTAB8	Perna direita	14/05/2019 5mm 	03/06/2019 4mm 	02/07/2019 L. fechada 	
LTAB9	Braço esquerdo	02/05/2019 15mm 	04/06/2019 12mm 	02/07/2019 L. fechada 	62 dias
		04/11/2018 15mm	18/12/2018 10mm	15/01/2019 L. fechada	
LTAB10	Coxa direita	04/11/2018 15mm	18/12/2018 10mm	15/01/2019 L. fechada	



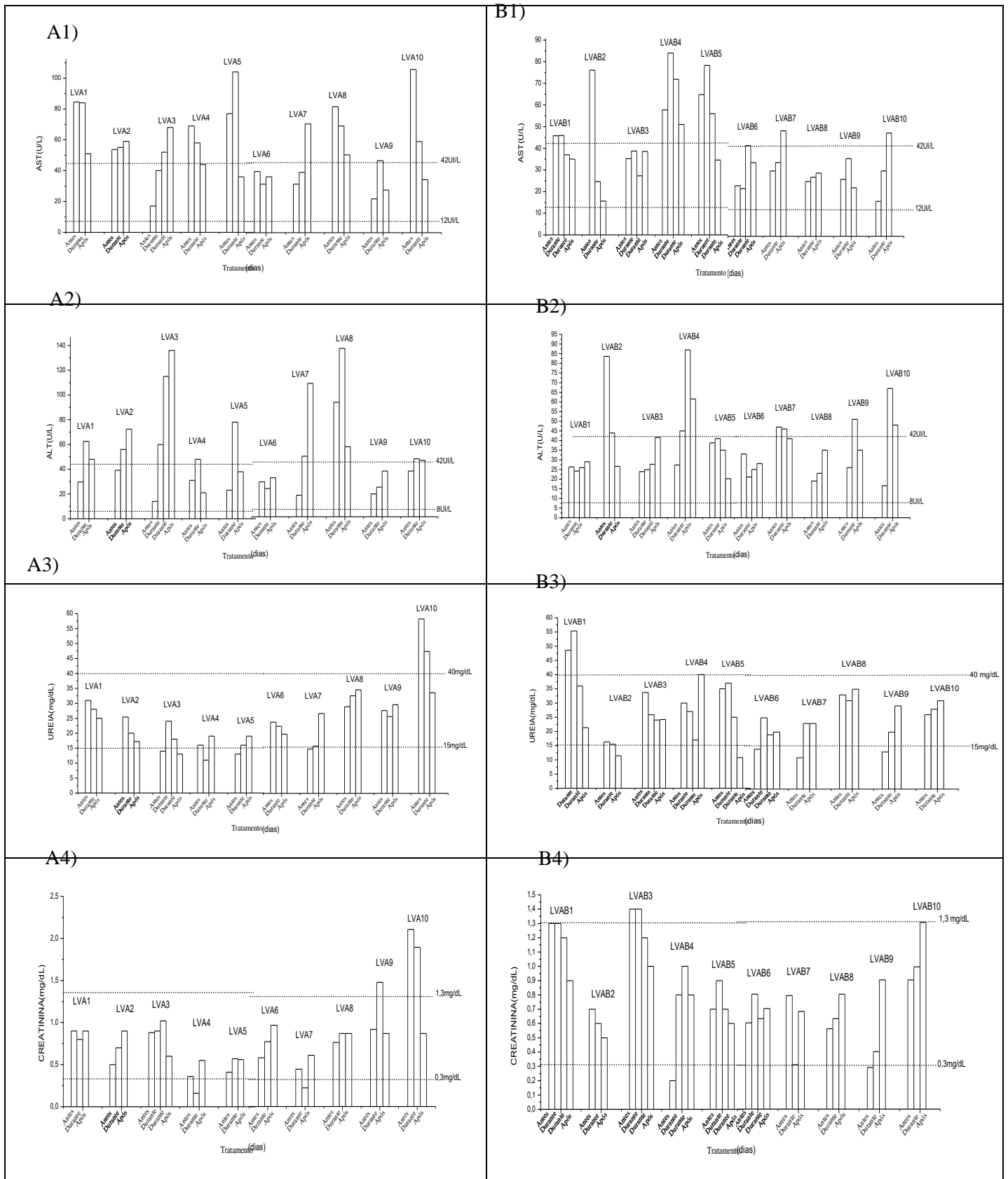
Fonte: Autoria própria, 2019.

**APÊNDICE 2-Marcadores Plasmáticos (AST e ALT) e Biomarcadores (Ureia e Creatinina) em pacientes diagnosticados com LT, em a) GE-LT-A e em b) GE-LTAB**



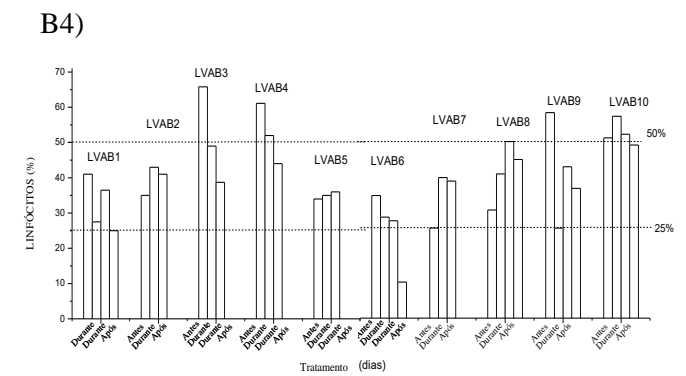
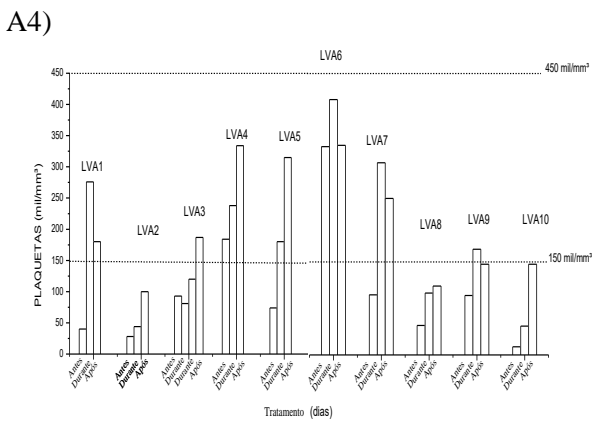
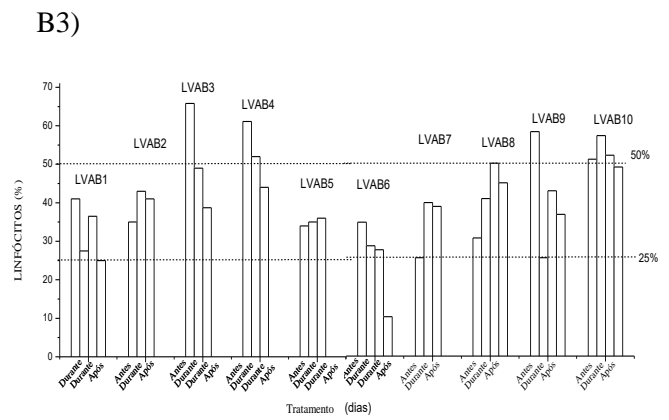
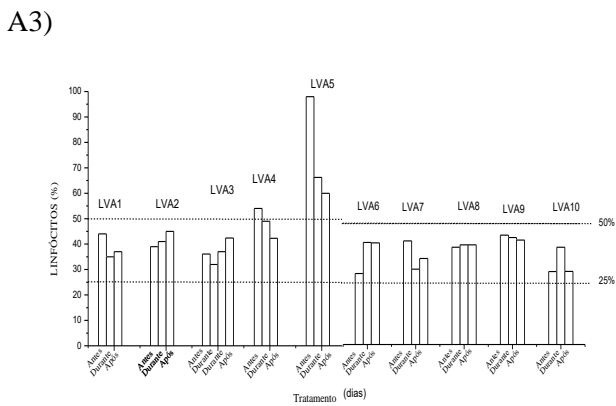
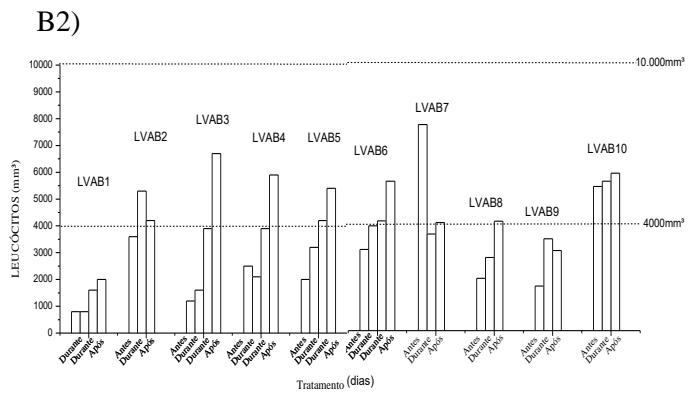
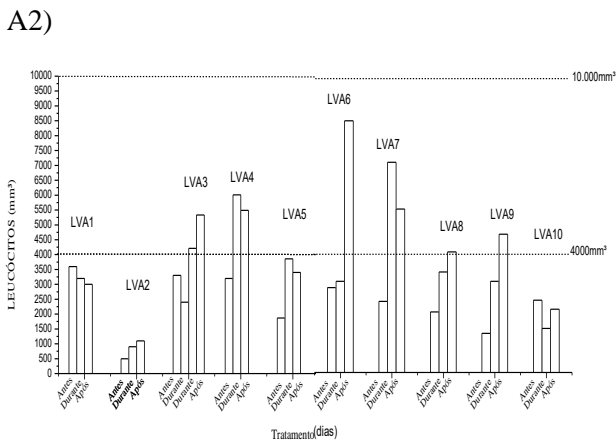
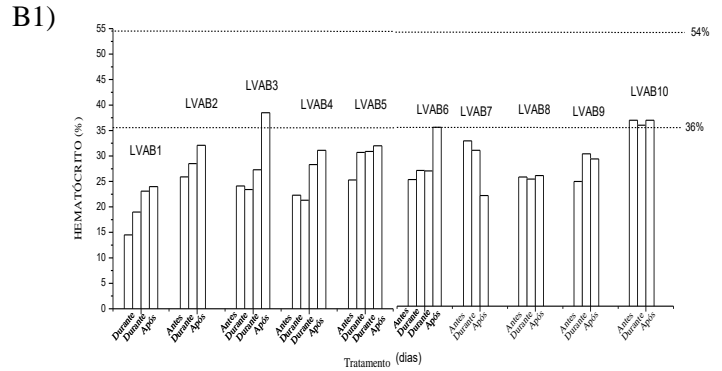
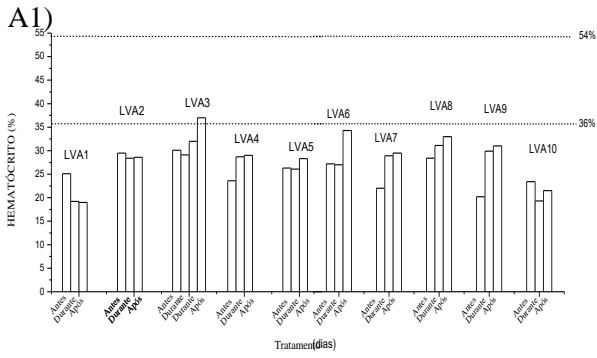
Fonte: Autoria própria, 2019.

**APÊNDICE 3- Marcadores Plasmáticos (AST e ALT) e Biomarcadores (Ureia e Creatinina) em pacientes diagnosticados com LV, em a) GE-LVA e em b) GE-LVAB**



Fonte: Autoria própria, 2019.

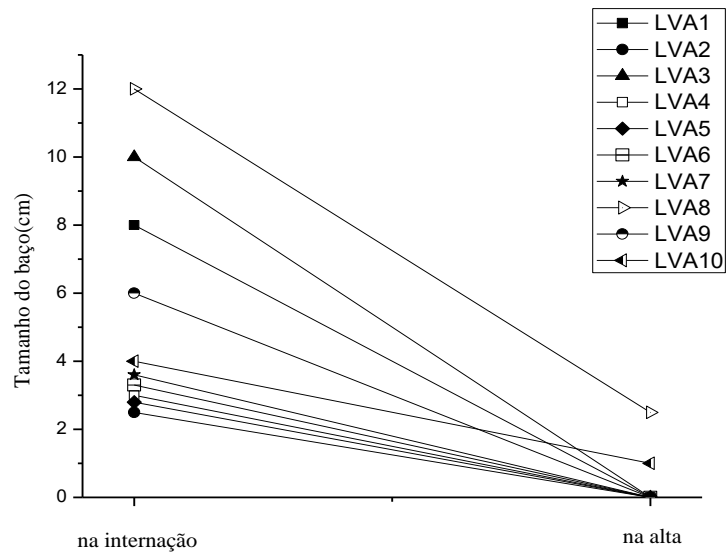
**APÊNDICE 4-Marcadores Hematológicos (Hematócrito, leucócitos, linfócitos e plaquetas) em pacientes diagnosticados com LV, em a) GE-LVA e em b) GE-LVAB**



Fonte: Autoria própria, 2019.

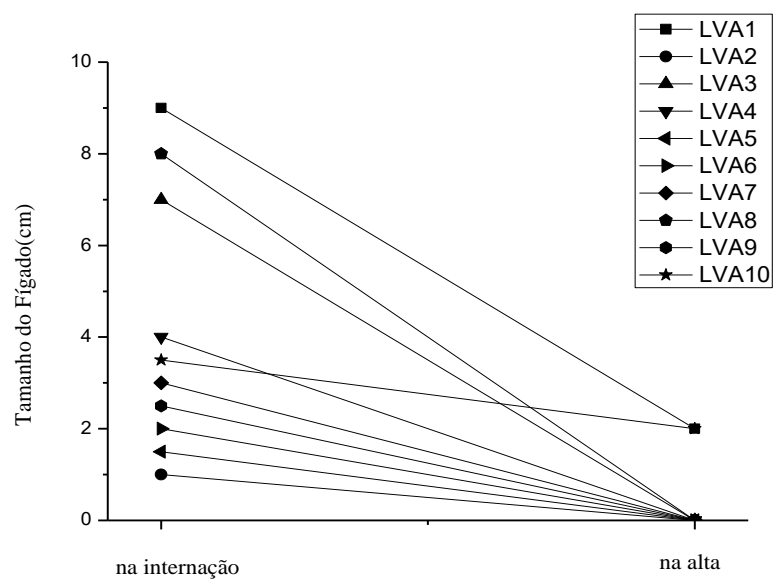
**APÊNDICE 5-** Gráficos referentes à diminuição do tamanho baço e fígado. Dados do GE-LV-A em: A) diminuição do tamanho baço e B) Diminuição do tamanho do fígado; Dados do GE-

A)



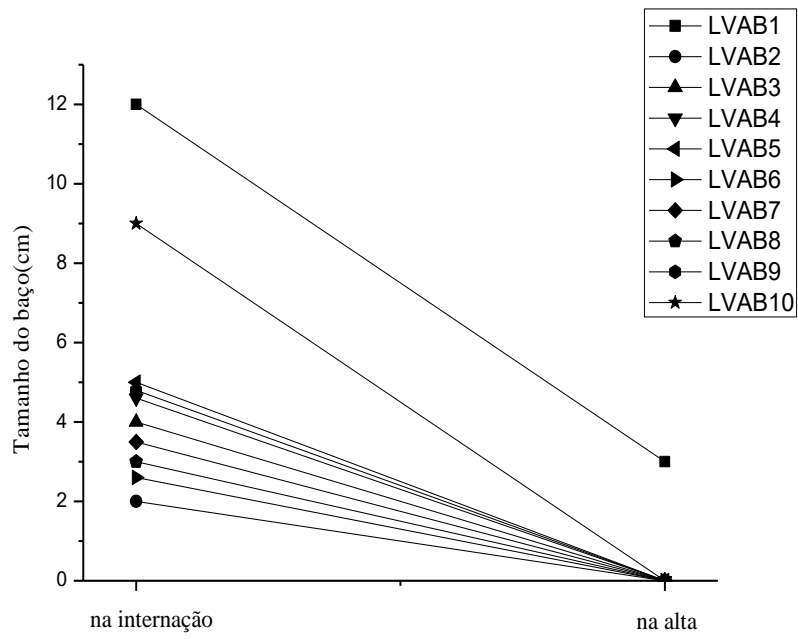
LVm: C) diminuição do tamanho baço e D) Diminuição do tamanho do fígado.

B)

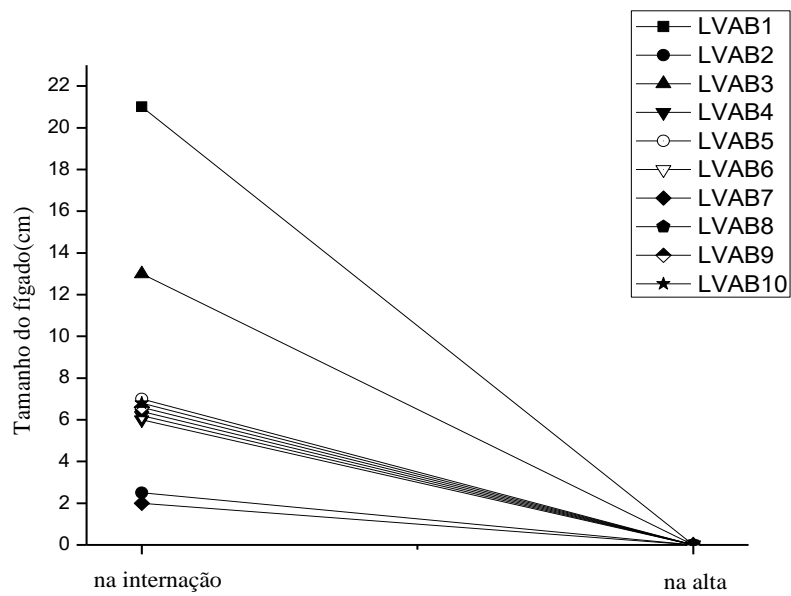




C)



D)



## ANEXO 1- Aprovação CEP/UFAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Prevenção primária e secundária nas leishmanioses - Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®

**Pesquisador:** Camila Braga Dornelas

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 57195216.7.0000.5013

**Instituição Proponente:** Escola de Enfermagem e Farmácia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.753.482

**Apresentação do Projeto:**

A emenda foi solicitada pelo relator do CEP do Centro Coparticipante (CPqAM/Fiocruz-PE), com ajustes na metodologia do projeto e nos TCLEs. Além disso, também foi requerida a adequação das cartas de anuência da pesquisadora do CPqAM integrante do projeto, bem como da instituição (correção dos cabeçalhos) e a inclusão da declaração de compromisso com o CPqAM e a carta de anuência do Hospital Escola Dr. Hélio Auto (HEHA). Todas as requisições e alterações estão detalhadas no arquivo anexado "ofício de detalhamento de solicitação de emenda". Vale ressaltar que a submissão ao CEP foi iniciada em 19 de junho e que o projeto correspondente foi aprovado pela Chamada Fapeal 06/2016, PPSUS, conforme D.O.U. de 13 de setembro de 2016.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Prestar prevenção secundária, com a investigação de própolis vermelha de Alagoas para uso oral nas leishmanioses em co-terapia com Glucantime®.

**Objetivo Secundário:**

Prestar prevenção primária, com ações educativas em áreas endêmicas para as leishmanioses no estado de Alagoas.

**Endereço:** Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,

**Bairro:** Cidade Universitária

**CEP:** 57.072-800

**UF:** AL **Município:** MACEIO

**Telefone:** (82)3214-1041

**E-mail:** comitedeticafal@gmail.com

Continuação do Parecer: 1.753.482

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Foram informados adequadamente.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Será realizado estudo clínico prospectivo em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Tegumentar (LT) e em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Visceral (LV) que, de forma randomizada, irão compor os grupos: grupo estudo-LT-A (GE-LT-A) e grupo estudo-LV-A (GE-LV-A), pacientes com LT ou LV que farão uso somente do tratamento convencional (terapia sistêmica recomendada pelo Ministério da Saúde), grupo estudo-LT-AB (GE-LT-AB) e grupo estudo-LV-AB (GE-LV-AB), pacientes com LT ou LV tratados em co-terapia com solução de extrato etanólico de própolis vermelha de Alagoas, PVA (via oral). Nos dois grupos que farão uso do extrato, os pacientes devem fazer uso oral diário do extrato (0,4 gotas/ kg/ 3x dia) durante o tempo do tratamento com o Glucantime®.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos foram devidamente apresentados.

Declaração de Instituição e Infraestrutura anuencia\_Esenfar\_UFAL.pdf

Outros declaracao\_publicizacao.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_prof\_Irinaldo.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_prof\_Luciano.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_prof\_Ticiano.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_prof\_Valter.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_profa\_Eurica.pdf

Folha de Rosto folha\_de\_rosto.pdf

Outros destinacao\_materials.pdf

Declaração de Pesquisadores anuencia\_Valeria\_E.pdf

Declaração de Instituição e Infraestrutura anuencia\_CEP\_HEHA\_E.pdf

Declaração de Instituição e Infraestrutura anuencia\_CPqAM\_E.pdf

Outros declaracao\_compromisso\_CEP\_CPqAM\_Flocruz\_PE\_E.pdf

Projeto Detalhado / Brochura Investigador projeto\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Ausência

TALE\_LT\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 57.073-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comtedeticoufi@gmail.com

Continuação do Parecer: 1.753.402

**Ausência**

TALE\_LV\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Ausência

TCLE\_LT\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Ausência

TCLE\_LV\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Ausência

TCLE\_LT\_responsavel\_E.pdf

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de

Ausência

TCLE\_LV\_responsavel\_E.pdf

Outros oficio\_cep\_CPqAM\_Fiocruz\_PE\_E.pdf

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A emenda atende às exigências da Resolução 466/2012.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_800166_E1.pdf	27/09/2016 10:12:19		Aceito
Outros	oficio_cep_CPqAM_Fiocruz_PE_E.pdf	27/09/2016 10:10:15	Camila Braga Dornelas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_LV_responsavel_E.pdf	26/09/2016 20:06:43	Camila Braga Dornelas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_LT_responsavel_E.pdf	26/09/2016 20:06:17	Camila Braga Dornelas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_LV_E.pdf	26/09/2016 20:05:23	Camila Braga Dornelas	Aceito

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO  
Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeticofei@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 1.753.402

Ausência	TCLE_LV_E.pdf	26/09/2016 20:05:23	Camila Braga Dornelas	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_LT_E.pdf	26/09/2016 20:05:05	Camila Braga Dornelas	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_LV_E.pdf	26/09/2016 20:04:02	Camila Braga Dornelas	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_LT_E.pdf	26/09/2016 20:03:37	Camila Braga Dornelas	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_E.pdf	26/09/2016 20:01:42	Camila Braga Dornelas	Acelto
Outros	declaracao_compromisso_CEP_CPqAM_Fiocruz_PE_E.pdf	26/09/2016 19:58:45	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_CPqAM_E.pdf	26/09/2016 19:55:27	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_CEP_HEHA_E.pdf	26/09/2016 19:54:50	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_Valeria_E.pdf	26/09/2016 19:54:28	Camila Braga Dornelas	Acelto
Outros	destnacao_materials.pdf	19/06/2016 14:40:59	Camila Braga Dornelas	Acelto
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	16/06/2016 21:55:50	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_prof_Eurica.pdf	15/06/2016 21:09:14	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_prof_Valter.pdf	15/06/2016 21:08:30	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_prof_Ticiano.pdf	15/06/2016 21:08:00	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_prof_Luciano.pdf	15/06/2016 21:07:50	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Pesquisadores	anuencia_prof_Inaldo.pdf	15/06/2016 21:07:38	Camila Braga Dornelas	Acelto
Outros	declaracao_publicizacao.pdf	15/06/2016 21:06:36	Camila Braga Dornelas	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_Esenfar_UFAL.pdf	15/06/2016 21:05:07	Camila Braga Dornelas	Acelto

**Situação do Parecer:**

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO

Teléfono: (82)3214-1041

E-mail: comtedesticeufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 1.753.482

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

**Não**

MACEIO, 29 de Setembro de 2016

---

Assinado por:  
Luolana Santana  
(Coordenador)

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO  
Telefone: (02)3214-1041 E-mail: comtedes@ufal@gmail.com

**ANEXO 2- Termos de consentimento/ assentimento LT**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

“O respeito devido á dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência á participação na pesquisa”.

(Resolução, nº 466/12, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu, ....., tendo sido convidado(a) a participar como voluntário do estudo: “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”. Recebi da Sra. Profa. Dra. Camila Braga Dornelas, do Curso de Farmácia, da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a avaliar o efeito da própolis em co-terapia com Glucantime em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Tegumentar;
- Que a importância deste estudo é a de possibilitar a melhora da qualidade de vida do paciente;
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: possibilitar a cicatrização mais rápida das lesões, dificultar o aparecimento das lesões secundárias e reduzir os efeitos adversos relacionados ao fármaco e/ou à doença;
- Que esse estudo começará em fevereiro/2017 e terminará em setembro/2018;
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: a solução de extrato de própolis será dada gratuitamente, bem como fornecidas suas instruções de uso, e seu efeito será verificado pelo tempo de cicatrização das lesões (medição do diâmetro quinzenalmente em visitas agendadas, até o desaparecimento total) e exame de sangue;
- Que eu participarei das seguintes etapas: limpeza das lesões e administração do produto, conforme as instruções de uso;
- Que os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados são as seguintes: não há (a única medida adotada é a limpeza das lesões);
- Que os incômodos e riscos da pesquisa podem ser: inibição/constrangimento diante de um observador, quebra de sigilo da pesquisa e hipersensibilidade a

qualquer um dos componentes da solução de extrato de própolis ou a outros da mesma classe ou reações alérgicas.

- Que deverei contar com a seguinte assistência: equipe multidisciplinar em saúde;
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: garantia da eficácia do fármaco, com menor tempo de cicatrização das lesões, menor chance de efeitos adversos, de evolução para lesões secundárias ou novas manifestações da doença, aumentando a adesão ao tratamento e melhorando a qualidade de vida dos pacientes;
- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: visitas periódicas sob orientação de um profissional médico;
- Que eu serei informado (a) sobre o resultado final desta pesquisa, e sempre que eu desejar será fornecido esclarecimento sobre qualquer etapa da mesma.
- Que eu poderei, sem o saber, fazer parte de um grupo de outros voluntári(os,as) que deverão utilizar falsos medicamentos que não produzirão nenhum efeito sobre mim;
- Que a qualquer momento, eu poderei recusar e continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo;
- Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Que eu deverei receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Que os critérios para suspender ou encerrar as pesquisas poderão ser de ordem operacional, inclusive pela possibilidade de haver recursos em participar do estudo. Caso não haja anuência por parte da população-alvo em participar das entrevistas individuais e/ou atividades que inviabilizem a constituição de uma amostra estatisticamente viável – posição eu será prontamente respeitada – será possível rediscutir o delineamento do projeto, suspendê-lo ou mesmo encerrá-lo. Ressalta-se, ainda, ser dever do pesquisador responsável suspender a pesquisa



imediatamente ao perceber algum risco ou dano à saúde do sujeito participante da pesquisa, conseqüente á mesma, não previsto neste termo de consentimento.

- Que eu deverei ser ressarcido por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, indenizado por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para estas despesas foi-me garantida a existência de recursos.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicará, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Endereço do participante-voluntário;</li> <li>• Domicílio (rua, praça, conjunto);</li> <li>• Bloco (Nº, complemento);</li> <li>• Bairro (CEP, cidade, telefone);</li> <li>• Ponto de referência.</li> </ul>                  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Contato de urgência: Sr(a). CAMILA BRAGA DORNELAS;</li> <li>• Domicílio: Rua Prof. Santos Ferraz, 213</li> <li>• Bloco B, ap. 403</li> <li>• Bairro Poço</li> <li>• Ponto de referência na rua da praça Maravilha</li> </ul> |

Endereço dos responsáveis pela pesquisa

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A.C. Simões, s/n


Bairro: CEP/cidade: Cidade Universitária/ Maceió – AL

Telefones para contato: (82) 3214-1154

**ATENÇÃO:** Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas  
Prédio da Reitoria, sala do C.O.C., Campus A. C. Simões, Cidade Universitária  
Telefone: 3214 - 1041

Maceió,

<p>_____</p> <p>(Assinatura ou impressão datiloscópica da voluntária ou responsável legal – Rubricar as demais folhas)</p>	 <p>Profa. Dra. Camila Braga Dornelas</p>
--	---

## **TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

### **(Para crianças e adolescentes - Resolução 466/12do Conselho Nacional de Saúde)**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”. Esta pesquisa é de responsabilidade da pesquisadora Sra. Profa. Dra. Camila Braga Dornelas, do Curso de Farmácia, da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas. Seus pais (ou responsáveis legais) permitiram que você participe.

Queremos saber o efeito da própolis com o fármaco padrão (Glucantime) em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Tegumentar. Participarão da pesquisa crianças e adolescentes, entre 6 e 18 anos de idade.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita com a solução de extrato de própolis, fornecida gratuitamente, bem como suas instruções de uso, e seu efeito será verificado pelo tempo de cicatrização das lesões (medição do diâmetro quinzenalmente em visitas agendadas, até o desaparecimento total) e exame de sangue.

O uso do produto é considerado seguro, mas é possível ocorrer hipersensibilidade ou alergia. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelo telefone (82) 99699-3462 do/a pesquisador/a Camila Braga Dornelas.

Mas há coisas boas que podem acontecer como melhora das lesões em menor tempo, menor chance de efeitos ruins durante o tratamento ou novas manifestações da doença, tornando o tratamento mais fácil.

Nem você e nem seus pais (ou responsáveis legais) pagarão nada para você participar desta pesquisa, também não receberão nenhum pagamento para a sua participação, pois é voluntária. Se houver necessidade, as despesas (deslocamento e alimentação) para sua participação e de seus pais serão assumidas ou ressarcidas pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da sua participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da

pesquisa vão ser publicados, sejam eles bons ou não, mas sem identificar as crianças que participaram.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi o telefone na parte de cima deste texto.

---

---

### **CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO**

Eu \_\_\_\_\_ aceito participar da pesquisa “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”.

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer.

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar irritado.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Maceió, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

---

Assinatura do menor

---

Assinatura do(a) pesquisador(a)

**ANEXO 3- Termos de consentimento/ assentimento LV****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

“O respeito devido á dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência á participação na pesquisa”.  
(Resolução, nº 466/12, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu, ....., tendo sido convidada a participar como voluntário do estudo: “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”. Recebi da Sra. Profa. Dra. Camila Braga Dornelas, do Curso de Farmácia, da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a avaliar o efeito da própolis em co-terapia com Glucantime em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Visceral;
- Que a importância deste estudo é a de possibilitar a melhora da qualidade de vida do paciente;
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: reduzir os efeitos adversos relacionados ao fármaco e/ou à doença;
- Que esse estudo começará em fevereiro/2017 e terminará em setembro/2018;
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: a solução de extrato de própolis será dada gratuitamente, bem como fornecidas suas instruções de uso, e seu efeito será verificado periodicamente por exame de sangue;
- Que os incômodos e riscos da pesquisa podem ser: inibição/constrangimento diante de um observador, quebra de sigilo da pesquisa e hipersensibilidade a qualquer um dos componentes da solução de extrato de própolis ou a outros da mesma classe ou reações alérgicas.
- Que deverei contar com a seguinte assistência: equipe multidisciplinar em saúde;
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: garantia da eficácia do fármaco, com menor chance de

efeitos adversos, ou novas manifestações da doença, aumentando a adesão ao tratamento e melhorando a qualidade de vida dos pacientes;

- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: visitas periódicas sob orientação de um profissional médico;
- Que eu serei informado (a) sobre o resultado final desta pesquisa, e sempre que eu desejar será fornecido esclarecimento sobre qualquer etapa da mesma.
- Que eu poderei, sem o saber, fazer parte de um grupo de outros voluntári(os,as) que deverão utilizar falsos medicamentos que não produzirão nenhum efeito sobre mim;
- Que a qualquer momento, eu poderei recusar e continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo;
- Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Que eu deverei receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Que os critérios para suspender ou encerrar as pesquisas poderão ser de ordem operacional, inclusive pela possibilidade de haver recursos em participar do estudo. Caso não haja anuência por parte da população-alvo em participar das entrevistas individuais e/ou atividades que inviabilizem a constituição de uma amostra estatisticamente viável – posição eu será prontamente respeitada – será possível discutir o delineamento do projeto, suspendê-lo ou mesmo encerrá-lo. Ressalta-se, ainda, ser dever do pesquisador responsável suspender a pesquisa imediatamente ao perceber algum risco ou dano à saúde do sujeito participante da pesquisa, conseqüente á mesma, não previsto neste termo de consentimento.
- Que eu deverei ser ressarcido por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, indenizado por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para estas despesas foi-me garantida a existência de recursos.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das

minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicará, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

- Endereço do participante-voluntário;
  - Domicílio (rua, praça, conjunto);
  - Bloco (Nº, complemento);
  - Bairro (CEP, cidade, telefone);
  - Ponto de referência.
- Contato de urgência: Sr(a). CAMILA BRAGA DORNELAS;
  - Domicílio: Rua Prof. Santos Ferraz, 213
  - Bloco B, ap. 403
  - Bairro Poço
  - Ponto de referência na rua da praça Maravilha

Endereço dos responsáveis pela pesquisa

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A.C. Simões, s/n

Bairro: CEP/cidade: Cidade Universitária/ Maceió – AL

Telefones para contato: (82)


ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas

Prédio da Reitoria, sala do C.O.C., Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214 - 1041

Maceió,

<p>(Assinatura ou impressão datiloscópica da voluntária ou responsável legal – Rubricar as demais folhas)</p>	 <p>Prof. Dra. Camila Braga Dornelas</p>
---	--

### **TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

#### **(Para crianças e adolescentes - Resolução 466/12do Conselho Nacional de Saúde)**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”. Esta pesquisa é de responsabilidade da pesquisadora Sra. Profa. Dra. Camila Braga Dornelas, do Curso de Farmácia, da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas. Seus pais (ou responsáveis legais) permitiram que você participe.

Queremos saber o efeito da própolis com o fármaco padrão (Glucantime) em pacientes diagnosticados com Leishmaniose Visceral. Participarão da pesquisa crianças e adolescentes, entre 6 e 18 anos de idade.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita com a solução de extrato de própolis, fornecida gratuitamente, bem como suas instruções de uso, e seu efeito será verificado periodicamente por exame de sangue.

O uso do produto é considerado seguro, mas é possível ocorrer hipersensibilidade ou alergia. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelo telefone (82) 99699-3462 do/a pesquisador/a Camila Braga Dornelas.

Mas há coisas boas que podem acontecer como menor chance de efeitos ruins durante o tratamento ou novas manifestações da doença, tornando o tratamento mais fácil.

Nem você e nem seus pais (ou responsáveis legais) pagarão nada para você participar desta pesquisa, também não receberão nenhum



pagamento para a sua participação, pois é voluntária. Se houver necessidade, as despesas (deslocamento e alimentação) para sua participação e de seus pais serão assumidas ou ressarcidas pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da sua participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, sejam eles bons ou não, mas sem identificar as crianças que participaram.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi o telefone na parte de cima deste texto.

---

### **CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO**

Eu \_\_\_\_\_ aceito participar da pesquisa “Prevenção primária e secundária nas leishmanioses – Investigação de extrato de própolis vermelha de Alagoas em co-terapia com Glucantime®”.

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer.

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar irritado.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Maceió, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

---

Assinatura do menor

---

Assinatura do(a) pesquisador(a)

