UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS

EFETIVIDADE DA OZONIOTERAPIA E TERAPIA FOTODINÂMICA EM FERIDAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

TESE DE DOUTORADO

DOUTORADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU

São José dos Campos, novembro/2025

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS

EFETIVIDADE DA OZONIOTERAPIA E TERAPIA FOTODINÂMICA EM FERIDAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

TESE DE DOUTORADO

Esta tese foi julgada adequada à obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi.

Orientadora: Profa. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Melo
Coorientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima

São José dos Campos, novembro/2025

FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS

EFETIVIDADE DA OZONIOTERAPIA E TERAPIA FOTODINÂMICA EM FERIDAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Esta tese foi julgada adequada à obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi.

Profa. Dra Lívia Helena Moreira da Silva Melo
Orientadora
Universidade Anhembi Morumbi

Profa. Dra Heloiza Helena de Oliveira Morelli Amaral
Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Henrique Cunha Carvalho
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dr. Leandro Procópio Alves
Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Carlos José de Lima
Coorientador
Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro
Coordenador do Curso de PPGEB - Universidade Anhembi Morumbi

São José dos Campos, novembro/2025

Ficha Bibliográfica elaborada pela biblioteca AMO
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M381e Matos, Franciane Aguiar Santana
Efetividade de Ozonioterapia e Terapia Fotodinâmica em feridas de Leishmaniose Tegumentar Americana - 2026
87; 30 cm

Orientador: Dr.ª Lívia Helena Moreira da Silva Melo
Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos - 2026.
Bibliografia: f. 64 - 74

1. Engenharia Biomédica. 2. Terapia Fotodinâmica 3. Ozonioterapia 4. Feridas 5. Leishmaniose Tegumentar Americana I. Matos, Franciane Aguiar Santana II. Título

CDD 610.28

Biblioteca Universidade Anhembi Morumbi

AGRADECIMENTOS

A Prof. (a). Dra. Lívia Melo, por me acolher e acreditar sempre que tudo vai dar certo, orientadora deste trabalho.

Ao Dr. Carlos Lima e ao Dr. Henrique Carvalho, pela dedicação, participação e orientação.

Ao professor Renato Zângaro, por entender as variantes que cercam um pesquisador na Amazônia Brasileira.

A todos os professores dedicados que conheci durante a jornada no CITE.

A Nídia, pela atenção dada durante todo esse ciclo da minha vida profissional.

A todos os enfermeiros (as), colegas de profissão, em especial, as enfermeiras Bianca, Jociléia, Rita de Cássia, Elana Batista, Greice Nara, Adriane, Maylelli e Romero.

A Nira, a Eliete, a Cilma e ao Carlos Venegas que colaboraram e entenderam a significado deste trabalho.

A bióloga, Nara, pelo seu apoio e acolhimento desde o início do projeto.

A todos os pacientes que permitiram o desenvolvimento deste trabalho.

Esperas curar uma laranjeira arrancando do seu pé, uma laranja doente? Ou melhor seria corrigir o solo, dar nutrientes e lhe regar frequentemente? Essa pergunta deve ser feita por toda pessoa que cair doente, e queiram lhe curar, cortando a região afetada açodadamente

Renato Zângaro

RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um importante problema de saúde pública, cujas limitações terapêuticas podem comprometer a cicatrização e favorecer sequelas cutâneas. Este estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar protocolos terapêuticos complementares baseados na terapia fotodinâmica (TFD) e na ozonioterapia para o tratamento de lesões por LTA, analisando sua eficácia no processo cicatricial. Trata-se de um estudo clínico experimental e longitudinal, realizado com 27 pacientes portadores de lesão única por LTA, residentes na região metropolitana de Santarém, Pará, e submetidos ao tratamento convencional do Sistema Único de Saúde (SUS). Os participantes foram distribuídos em três grupos: Controle (TC; n=9), tratado apenas com a terapia convencional; Terapia Fotodinâmica (TFD; n=10), submetido à aplicação tópica de azul de metileno a 1% associada à irradiação quinzenal (45 J/cm²; 630 nm); e Ozonioterapia (TO_3; n=8), tratado com aplicação semanal de gás ozônio sobre a lesão (7,5 mg/min) por meio de bolsa plástica diretamente sobre a lesão durante 15 minutos. A evolução cicatricial foi acompanhada por registros fotográficos analisados no software ImageJ®. A maioria dos participantes era do sexo masculino (74%), com idade média de 37 anos com atividades laborais de garimpo (41%) seguida de agricultura (21%). As lesões localizavam-se principalmente nos membros superiores (41%), inferiores (37%) e face (18%). Os resultados demonstraram melhor desempenho dos tratamentos complementares em comparação ao tratamento convencional. O grupo TFD apresentou regressão das lesões 234% superior à observada no grupo controle, enquanto o grupo TO_3 apresentou incremento de 172%. Conclui-se que a terapia fotodinâmica e a ozonioterapia potencializaram significativamente a cicatrização das lesões por LTA, configurando-se como abordagens complementares promissoras para o manejo da doença em áreas endêmicas, especialmente na Amazônia brasileira.

Palavras-chave: Engenharia Biomédica. Terapia Fotodinâmica. Ozonioterapia. Feridas. Leishmaniose Tegumentar Americana.

EFFECTIVENESS OF OZONE THERAPY AND PHOTODYNAMIC THERAPY IN WOUNDS OF AMERICAN TEGUMENTARY LEISHMANIASIS

ABSTRACT

American Tegumentary Leishmaniasis (ATL) is a significant public health issue; its therapeutic limitations can hinder healing and lead to cutaneous sequelae. This study aimed to develop and evaluate complementary therapeutic protocols—based on photodynamic therapy (PDT) and ozone therapy—for treating ATL lesions, analyzing their efficacy in the healing process. This was a longitudinal, experimental clinical study involving 27 patients with a single ATL lesion, residing in the metropolitan region of Santarém, Pará, who were undergoing conventional treatment provided by the Brazilian Unified Health System (SUS). Participants were divided into three groups: Control (TC; n=9), receiving only conventional therapy; Photodynamic Therapy (PDT; n=10), involving the topical application of 1% methylene blue combined with biweekly irradiation (45 J/cm²; 630 nm); and Ozone Therapy (TO_3; n=8), involving the weekly application of ozone gas to the lesion (7.5 mg/min) via a plastic bag placed directly over the site for 15 minutes. Healing progress was monitored through photographic records analyzed using ImageJ® software. The majority of participants were male (74%), with a mean age of 37 years; their occupations primarily included mining (41%) and agriculture (21%). Lesions were located mainly on the upper limbs (41%), lower limbs (37%), and face (18%). The results demonstrated that the complementary treatments performed better than the conventional treatment alone. The PDT group showed a 234% greater reduction in lesion size compared to the control group, while the TO_3 group showed a 172% greater reduction. It is concluded that photodynamic therapy and ozone therapy significantly enhanced the healing of lesions caused by American tegumentary leishmaniasis (ATL), representing promising complementary approaches for the management of the disease in endemic areas, especially in the Brazilian Amazon.

Keywords: Biomedical Engineering. Photodynamic Therapy. Ozone Therapy. Wounds. American Tegumentary Leishmaniasis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Forma Cutânea da LTA. Lesão constatada, única e ulcerada no dorso da mão esquerda (**A**), de bordas elevadas, irregulares e infiltradas (**B**).....21

Figura 2. Ferida cicatrizada da forma Cutânea da LTA. Mão esquerda de um paciente **(A**), em vista dorsal, com uma lesão cutânea em processo avançado de cicatrização (**B**).....22

Figura 3. Princípios da Terapia Fotodinâmica.....24

Figura 4. Diagrama esquemático demonstrando a distribuição dos pacientes durante os tratamentos propostos na pesquisa.....34

Figura 5. Georreferenciamento por satélite para a localização dos municípios de Belterra, Itaituba e Santarém no estado do Pará, Brasil do estudo proposto.....35

Figura 6. Equipamento para a Terapia Fotodinâmica.....36

Figura 7. Equipamento gerador de ozônio para o tratamento medicinal.....36

Figura 8. Imagem fotográfica apresentando a lesão cutânea gerada por LTAC, constando também escala dimensional de referência a fim de permitir via Image J®, o cálculo da área da ferida.....37

Figura 9. Kit de curativo para tratamento convencional preconizado pelo SUS.....39

Figura 10. Fotossensibilizador utilizado para a terapia fotodinâmica (azul de metileno a 1%, fabricado por Farmácia de manipulação Bioativa) (**A**) e aplicação de técnica TFD (**B**) na área da face, paciente com óculos de proteção (EPI) durante o procedimento.....41

Figura 11. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 9), distribuídos em linhas pelos registros semanais do tratamento convencional pelo SUS. Pacientes 1 a 4 receberam o medicamento intralesional, pacientes de 5 a 9 receberam o medicamento pela via endovenosa.....47

Figura 12. Regressões lineares das lesões cutâneas dos pacientes (P1 a P9) de LTAC submetidos apenas ao tratamento convencional (SUS) do Grupo Controle, correlacionando a área da lesão (cm^2) x tempo (semanas) de tratamento.....48

Figura 13. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 10), mostrando a evolução do processo de cicatrização, distribuídos em linhas pelos registros semanais do tratamento TFD associado ao Glucantime® fornecido pelo SUS.....51

Figura 14. Regressões lineares das lesões de LTAC dos pacientes (P1 a P10) submetidos ao tratamento TFD associado ao tratamento convencional (SUS), correlacionando a área da lesão ($cm^{2)}$ x tempo (semanas) de tratamento.....52

Figura 15. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 8), mostrando as evoluções do processo de cicatrização, distribuídos em linhas, em tratamento da ozonioterapia e Glucantime® (SUS) durante o processo de cicatrização em semanas de tratamento.....54

Figura 16. Regressões lineares dos pacientes (P1 a P8) das lesões de LTAC submetidos ao tratamento Ozonioterapia associado ao tratamento convencional (SUS), correlacionando a área da lesão (cm^2) x tempo (semanas) de tratamento.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Etapas dos procedimentos realizados no grupo tratamento convencional (TC) que foi comum a todos os grupos estudados.....38

Tabela 2. Etapas dos procedimentos realizados no grupo da terapia fotodinâmica (grupo TFD).....40

Tabela 3. Etapas dos procedimentos realizados no grupo ozonioterapia (TO_3).....41

Tabela 4. Dados epidemiológicos da população com lesões de LTAC em tratamento nesta pesquisa.....45

Tabela 5. Evolução da regressão das lesões (cm^2) por LTAC e o número de atendimentos em semanas por paciente do grupo 1 - Tratamento Convencional (TC).....46

Tabela 6. Evolução da regressão das lesões (cm^2) por LTAC e o número de sessões em semanas por paciente do grupo 2 - Terapia Fotodinâmica (TFD).....50

Tabela 7. Evolução do processo de cicatrização das lesões (cm^2) por LTAC com o número de sessões em semanas e a dosagem de O_3 aplicada por paciente.....53

Tabela 8. Coeficientes de regressão e taxa de regressão semanal das lesões por LTAC dos pacientes distribuídos nos grupos de tratamentos.....56

LISTA DE ABREVIATURAS

ALA Ácido Aminolevulínico
AM Azul de Metileno
ATP Adenosina Trifosfato
BSA *Bovine Serum Albumi,* Albumina Bovina
CAAE Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CEP Comitê de Ética em Pesquisa
DE Densidade de Energia
DIVISA Divisão de Vigilância em Saúde
DNA. Ácido Desoxirribonucleico
FS Fotossensibilizador
H_2O_2 Peróxido de hidrogênio
IFN Interferon
IFN-γ Interferon gama
IL-2 Interleucina
IDRM Reação Intradérmica de Montenegro
LCA Leishmaniose Cutânea Americana
LPG Lipofosfoglicano
LT Leishmaniose Tegumentar
LTA Leishmaniose Tegumentar Americana
LTAC Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea
LED *Light Emitting Diode,* Diodo Emissor de Luz
LOPs *Lipid Oxidation Products*, Produtos de Oxidação Lipídica
NF-KB Fator Nuclear Kappa
Nrf 2 Fator Nuclear Eritroide 2
NK Natural Killer
NMN Novy, McNeal e Nicolle
RasGap Proteína Ativadora de GTPase de Ras
RNA Ácido Ribonucleico
EROs Espécies Reativas de Oxigênio
SUS Sistema Único de Saúde
SOD Superóxido dismutase
TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCO_3. Taxa de Concentração de Ozônio

TCUD Termo de Compromisso de Utilização dos Dados

TFD Terapia Fotodinâmica

TGF Fator de Crescimento Transformador

TNF Fator de Necrose Tumoral

TO_3 Ozonioterapia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....16

1.1 Justificativa.....17

1.2 Objetivos.....18

1.2.1 Objetivo geral.....18

1.2.2 Objetivos específicos.....18

1.3 Hipóteses.....18

2 REVISÃO DA LITERATURA.....19

2.1 Leishmaniose Tegumentar Americana.....19

2.2 Terapia Fotodinâmica.....24

2.3 Ozonioterapia.....28

3 METODOLOGIA.....33

3.1 Aspectos Éticos.....33

3.2 Caracterização da amostra.....33

3.3 Caracterização do local da pesquisa.....34

3.4 Equipamentos utilizados na pesquisa.....35

3.5 Protocolos Terapêuticos.....37

3.6 Análise de dados.....43

4 RESULTADOS.....44

4.1 Caracterização da população.....44

4.2 Evolução das feridas dos pacientes com LTAC submetidas aos diferentes protocolos terapêuticos.....45

5 DISCUSSÃO.....58

6 CONCLUSÃO.....63

7 REFERÊNCIAS.....64

APÊNDICE (S).....75

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença de grande relevância para a Saúde Pública em diferentes partes do mundo. Devido à preocupação com o risco de ocasionar deformidades no ser humano e pelas consequências que podem causar no âmbito socioeconômico é considerada uma das afecções dermatológicas ocupacionais que mais merecem atenção na região norte do Brasil (BRASIL, 2017). Com características próprias, tais como, difícil acesso às regiões florestais, incidência elevada para LTA e via parenteral de administração do medicamento tem colaborado para a alta prevalência da doença na região norte do país (BRASIL, 2004).

A LTA tem sido relatada em todas as 27 unidades federativas do Brasil e seu padrão epidemiológico vem sofrendo alterações no que diz respeito à sua transmissão, com ciclos de maior ocorrência a cada 5 anos (TANURE et al., 2020). Dessa forma, de 2010 a 2023, foram notificados 265.722 casos de LTA no Brasil (DATASUS, 2023) caracterizando - se como um problema de saúde pública no país.

Abraão et al. (2020) ao descreverem o perfil epidemiológico dos casos de LTA no estado do Pará, de 2008 a 2017, observaram que a incidência média de caso da doença no estado foi de 43 casos/100.000 habitantes, sendo então classificado como área de ocorrência de alta intensidade, segundo critérios da Organização Pan Americana de Saúde (OPAS). No município de Santarém/PA, a LTA apresenta uma alta incidência na população com uma distribuição espacial dos casos não homogênea, possuindo maior concentração em áreas distantes da capital do estado (ABRAÃO et al., 2020).

A LTA tem a forma cutânea como a apresentação mais comum, sendo responsável por mais de 90% dos casos no Brasil (MATTOS, 2017). As manifestações clínicas exibem grande variabilidade e dependem da resposta imune do hospedeiro e da espécie infectante. Em sua maioria apresenta lesão cutânea única, e poucos são os casos com mais de três úlceras. Além da ulceração clássica, a doença pode também se manifestar por meio de lesões vegetantes ou verrucosas (VASCONCELOS JÚNIOR et al., 2021).

O quadro epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea (LTAC) no município de Santarém evidencia o problema no estado, conforme se observa os registros do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN/DATASUS). Os registros mostram que no município foram notificados 123 casos em 2022, 100 casos em 2023, 54 casos em 2024, e até setembro de 2025 já haviam sido registrados 44 casos de LTAC. Esses dados reforçam a relevância de estudos e ações voltadas ao enfrentamento da doença, especialmente nos

territórios amazônicos, onde fatores ambientais e sociais favorecem sua persistência e disseminação.

Com o diagnóstico tardio da Leishmaniose Tegumentar Americana e a demora para o início do tratamento, complicações e sequelas irreversíveis nos pacientes podem surgir, uma vez que, a doença pode ocasionar lesões destrutivas, desfigurantes e incapacitantes nos pacientes com impactos no âmbito psicossocial (BRASIL, 2017; GONTIJO; MELLO, 2004).

Embora a Leishmaniose se apresente como um problema de saúde pública, estudos mostram que existem inúmeras limitações às terapêuticas utilizadas no tratamento desta doença devido a toxicidade dos fármacos no organismo humano (DA CRUZ VIEIRA; FIGUEIREDO, 2021, BRASIL, 2017). O tratamento para LTA é desafiador, pois envolve a escolha do regime terapêutico mais adequado entre as opções disponíveis, principalmente a inclusão de medicamentos antimoniais, anfotericina B e miltefosina. A eficácia dos tratamentos pode ser influenciada pela resistência do parasita, resposta imune do hospedeiro e a reinfecção com outras cepas variantes do parasita, além dos efeitos colaterais dos fármacos, que podem ser severos e impactar na qualidade de vida do indivíduo acometido pela doença (DA CRUZ VIEIRA; FIGUEIREDO, 2021).

Contudo, considerando os desafios relacionados à toxicidade, ao tempo prolongado de uso e à resistência parasitária, terapias alternativas vêm sendo investigadas como potenciais estratégias de tratamento, entre as quais se destacam a Terapia Fotodinâmica (TFD) e a Ozonioterapia (TO_3) (AGHAEI et al., 2019; BRASIL, 2017; PINTO et al., 2016).

1.1 Justificativa

Segundo Ameen (2010), todos os fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses (antimônio pentavalente, anfotericina B, pentamidina) apresentam limitações quanto ao seu uso pela dificuldade de administração, toxicidade e resistência aos fármacos desenvolvida pelo parasita comprometendo a eficácia do tratamento. O desenvolvimento de protocolos terapêuticos cicatriciais utilizando as técnicas, Terapia Fotodinâmica (TFD) e a Ozonioterapia (TO_3), visando a redução do período de cicatrização, e consequentemente evitando os agravos de mutilações (nariz e face) das lesões cutâneas, se fazem necessários e podem impactar diretamente na qualidade de vida dos pacientes. A Técnica Ozonioterapia já foi aprovada como tratamento complementar pelo Sistema Único de Saúde e a Terapia Fotodinâmica tem descrições na literatura científica com bons resultados em diferentes etiopatogenias no tratamento das feridas, mas em ambas as situações não foram propostos protocolos terapêuticos

concomitante ao medicamento convencional.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia da Terapia Fotodinâmica e da Ozonioterapia no processo de cicatrização de feridas decorrentes de lesões por LTA, comparando suas taxas de reparo tecidual com aquelas obtidas pelo protocolo convencional baseado em medicação tradicional específica.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Verificar em termos de cicatrização, o quanto a Terapia fotodinâmica se apresenta mais eficiente em relação ao tratamento tradicional, através da avaliação dos efeitos da terapia fotodinâmica utilizando o fotossensibilizador azul de metileno a 1%, foto-estimulador com LEDs atuando em 630 nm, na DE 45 J/cm^2 nas lesões de LTAC.
2. Verificar em termos de cicatrização, o quanto a Ozonioterapia se apresenta mais eficiente em relação ao tratamento tradicional através da avaliação dos efeitos da ozonioterapia utilizando bolsas plásticas envolvendo as lesões cutâneas de LTAC, na taxa de concentração de ozônio de 7,5 mg/minuto.
3. Avaliar o tempo cicatrização dos protocolos propostos com o tratamento convencional fornecido pelo SUS.

1.3 Hipóteses

As técnicas, terapia fotodinâmica e ozonioterapia, são capazes de reduzir o tempo de cicatrização das lesões LTA, sem desencadear efeitos colaterais (dor, queimação, edema e pigmentação) provenientes destes protocolos quando comparadas pelo método convencional do SUS, tornando-se propostas de tratamentos alternativos para a Leishmaniose em áreas isoladas por barreiras físicas geográficas onde a doença é endêmica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2. 1 Leishmaniose Tegumentar Americana

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete a pele e as mucosas, afetando principalmente os animais (mamíferos silvestres, cães e gatos) e secundariamente o homem, sendo, portanto, considerada uma Zoonose. No Brasil, já foram identificadas sete espécies, causadora da LTA, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As três principais espécies são: *L. (V.) braziliensis, L. (V.) guyanensis e L. (L.) amazonensis.* Sendo por último identificadas as espécies *L. (V.) lainsoni, L. (V.) naiffi, L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi*, em estados das regiões Norte e Nordeste do país (BRASIL, 2017; MATTOS, 2017).

Agente etiológico e vetores

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, com duas formas distintas: flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor; e sem os flagelos ou amastigota encontradas no hospedeiro vertebrado. Os vetores da Leishmaniose Tegumentar (LT) são insetos denominados flebotomíneos, pertencentes a ordem Díptera, família Psychodidae, subfamilia Phlebotominae, gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente, de acordo com a localização geográfica, como tatuquira, birigui, entre outros (BRASIL, 2017). Entre as principais espécies de flebotomíneos vetores da LT no Brasil estão: *Lutzomyia migonei, Lutzomyia whitmani, Lutzomyia _aviscutellata, Lutzomyia wellcome, Lutzomyia umbratilisi e Lutzomyia intermedia (*BRASIL, 2017).

As formas promastigotas da *Leishmania* são transmitidas pelo inseto vetor (*Phlebotomus* e *Lutzomyia*) a hospedeiros vertebrados. Os insetos vetores se infectam ao se alimentarem de sangue de mamíferos infectados pelo protozoário. Sabe-se que os reservatórios animais variam com as espécies de *Leishmania* spp. e localização geográfica, incluindo cães e roedores silvestres (BRASIL, 2017).

O modo de transmissão é pela picada de insetos transmissores infectados. As fêmeas de flebotomíneo ao se alimentarem dos reservatórios infectados, adquirem as formas amastigotas do protozoário, que rapidamente se transformam em formas promastigotas no intestino dos vetores. No interior do inseto uma nova transformação ocorre, e após um período de divisão,

as formas denominadas promastigotas metacíclicas se instalam na região das glândulas salivares do flebótomo, o que permite a transmissão do protozoário para um novo hospedeiro durante o repasto sanguíneo (BRASIL, 2006; CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

As formas promastigotas interagem com as células do sistema fagocítico mononuclear (macrófagos) dos hospedeiros, perdem o flagelo e, sob a forma amastigota, passam a se multiplicar dentro das células (BRASIL, 2006). A infecção é definida por uma série de fatores do parasito (espécie, cepa, forma evolutiva, número inicial) e do hospedeiro (células do sistema imune inato e adaptativo, sistema complemento, quimiocinas etc.) (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

Nos hospedeiros infectados, os parasitas podem permanecer localizados na pele ou se disseminarem para a mucosa da nasofaringe, resultando na apresentação clínica Tegumentar Americana da leishmaniose: Cutânea e Mucocutânea (BRASIL, 2006). O período de incubação da Leishmaniose tegumentar no ser humano é, em média, de dois a três meses, podendo diversificar em duas semanas a dois anos (BRASIL, 2017).

Leishmaniose: Forma clínica cutânea

As principais espécies causadoras da forma clínico cutânea são: *L. major* e *L. tropica* no sul da Europa, Ásia e África; *L. mexicana* e espécies relacionadas no México e nas Américas Central e do Sul; *L. braziliensis* e espécies relacionadas nas Américas Central e do Sul (BRASIL, 2017).

Apesar da diversidade de espécies de *Leishmania* tegumentar, o quadro clínico da doença não depende apenas da espécie do parasita, mas também do tamanho do inóculo, da fase de metaciclogênese, das substâncias presentes na saliva do vetor, como a maxadilan, e dos fatores genéticos e imunes do hospedeiro. Um espectro de formas clínicas pode se desenvolver na dependência das características da resposta imune do hospedeiro mediada por células. As alterações bioquímicas que ocorrem durante a metaciclogênese conferem às formas promastigotas maior resistência à lise celular mediada pelo sistema complemento, constituído por proteínas que interagem entre si e com outras moléculas do sistema imune, influenciando a manifestação clínica da doença (BRASIL, 2006; BRASIL, 2017).

As formas promastigotas inoculadas ocasionam uma resposta inflamatória aguda da qual encontram-se células e fatores séricos – células *Natural Killer* (NK), polimorfonucleares (neutrófilos, macrófagos e eosinófilos). O papel das células NK no controle da infecção deve-se tanto a sua ação citotóxica quanto ao fato de ser fonte primária de interferon-gama (IFN-γ),

o que predispõem um potencial para acarretar uma resposta imune celular, estimulando a resistência na primeira semana de infecção (BRASIL, 2006). No entanto, os níveis de anticorpos tendem a ser baixos ou até indetectáveis na LTA, especialmente nos casos de lesão cutânea única, o que contribui para a limitação da resposta imune celular eficaz. Essa condição está associada à evolução clínica desfavorável e a uma resposta terapêutica menos efetiva contra o parasito (BRASIL, 2017).

O período de incubação da LTA varia usualmente entre duas semanas e dois meses. A lesão ulcerada é precedida por uma mácula, que perdura de um a dois dias depois da picada do inseto vetor infectado (BRASIL, 2017), seguida por pápula, nódulo e úlcera.

A úlcera típica de leishmaniose cutânea é geralmente indolor e costuma localizar-se em áreas expostas da pele; tem formato arredondado ou ovalado; mede de alguns milímetros até alguns centímetros; tem base eritematosa, infiltrada e de consistência firme; com bordas bem delimitadas e elevadas, com fundo avermelhado e granulações grosseiras (Figura 1). A infecção bacteriana na úlcera de leishmaniose cutânea, quando associada, pode levar a dor local e a presença de exsudato seropurulento que, ao dessecar-se em crostas, recobre total ou parcialmente o fundo da úlcera (BRASIL, 2017).

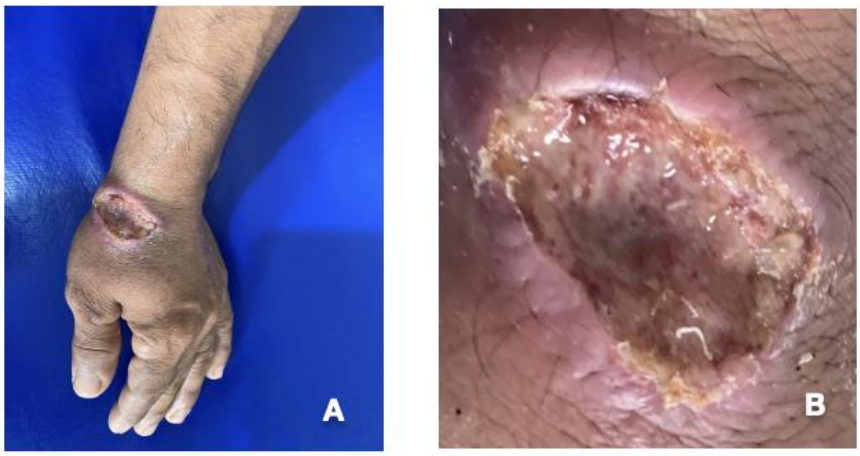

Figura 1. Forma Cutânea da LTA. Lesão constatada, única e ulcerada no dorso da mão esquerda (**A**), de bordas elevadas, irregulares e infiltradas (**B**).

As lesões cutâneas, ao evoluírem para a cura, geralmente deixam cicatrizes atróficas, deprimidas, com superfície lisa, áreas com hipo ou hiperpigmentação e faixas de tecido fibroso. Em algumas situações podem se transformar em hipertróficas ou sem alterações de pigmentação, tamanho, forma ou localização (BRASIL, 2017) (Figura 2).

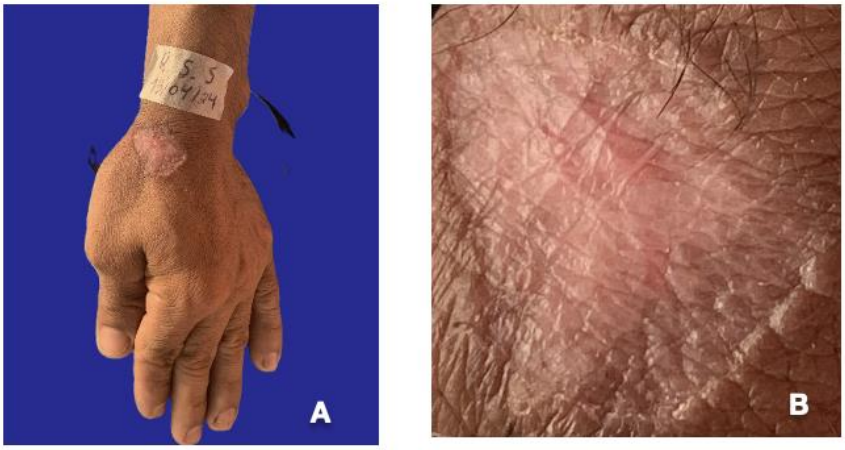

Figura 2. Ferida cicatrizada da forma Cutânea da LTA. Mão esquerda de um paciente **(A)**, em vista dorsal, com uma lesão cutânea em processo avançado de cicatrização (**B**).

Diagnóstico e tratamento convencional

O diagnóstico da leishmaniose considera vários parâmetros clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, que consistem na evidenciação do parasito e em provas imunológicas. Assim, o diagnóstico laboratorial pode ser obtido por meio de exames parasitológicos diretos e cultura para Leishmania de amostras de tecido, imunológicos (sorologia e teste de Montenegro) e histológicos (imuno-histoquímica). Ressalta-se, que a análise histopatológica dos fragmentos de biópsia é fundamental no diagnóstico da LTA, pois pode-se identificar as formas parasitárias e, simultaneamente, colaborar para o diagnóstico diferencial, além da investigação através da punção aspirativa para investigação ganglionar primária (BRASIL, 2010; CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

A reação intradérmica de Montenegro (IDRM), conhecida também como Teste de Montenegro, é uma reação de hipersensibilidade que demonstra a presença de resposta imune celular ao parasita *Leishmania* (MATTOS, 2017). No exame parasitológico direto, ocorre a investigação das formas amastigotas em lâminas de impressão por aposição ou material oriundo de escarificação, biópsia e punção aspirativa, corados pela técnica de Giemsa ou Leishman. Enquanto, no exame parasitológico indireto ocorre o isolamento do agente infeccioso em meios de cultivo, como por exemplo, o meio semissólido Novy, McNeal e Nicolle (NMN) e o meio líquido Schneider (BRASIL, 2010), contudo, o exame mais simples para a comprovação do parasita é o raspado dérmico (MATTOS, 2017).

O tratamento da LTA é feito com Glucantime® (Antimoniato de Meglumina, sal de antimônio pentavalente), medicamento de primeira escolha, podendo ser utilizado para tratar todas as formas clínicas. O Glucantime® pode ser administrado por via intravenosa,

intramuscular ou intralesional, sendo que o tratamento intravenoso e o intramuscular tem duração média de 20 dias para a forma cutânea, ou 30 dias para a forma mucocutânea, sendo a dosagem administrada de acordo com o peso do paciente (BRASIL, 2017).

A administração intralesional de volume de Glucantime® empregado no tratamento local da LTAC não obedece ao cálculo habitual de dosagem. Assim, o mesmo consiste em injetar o Glucantime® sob a base da lesão única de até 3 cm de diâmetro, independentemente de peso ou idade do paciente, podendo ser administrado até 5 mL/por lesão (uma ampola). Os pacientes submetidos a este tipo de tratamento são os mesmos que podem ser submetidos ao uso sistêmico do Glucantime® desde que apresentem lesões localizadas, fora de proeminências ósseas ou da face e, não sejam imunodeprimidos. A resposta ao tratamento deve ser avaliada a cada 15 dias e, dependendo da evolução realiza-se novas aplicações (GOVERNO DE SAÚDE DE SANTA CATARINA, 2021).

Os pacientes com contraindicação para o uso do Glucantime® deverão ser tratados com Desoxicolato de Anfotericina B, Anfotericina B Lipossomal ou Pentamidina. A Pentamidina é usada como medicamento de primeira escolha para as infecções por *L. (Viannia) guyanensis*. No Brasil, esta espécie de *Leishmania* está restrita a Região Norte (Acre, Amapá, Roraima, Amazonas e Pará), até as Guianas. Mais recentemente, introduziu-se a miltefosina de uso oral pelo Sistema Único de Saúde, um medicamento que apresenta eficácia semelhante e com poucos efeitos colaterais quando comparado com o Glucantime® (GOVERNO DE SANTA CATARINA, 2021).

O término do tratamento para Leishmaniose Tegumentar ocorrerá após o acompanhamento clínico, realizado com periodicidade aos 45 e 90 dias após a última aplicação do medicamento, e após seis meses para o diagnóstico de recidivas cutâneas com comprometimento de mucosa. A orientação ao paciente sobre esses achados clínicos é importante para a procura imediata pelos serviços de saúde. Os critérios de cura para leishmaniose cutânea localizada, após os três meses do encerramento do tratamento serão cicatrização com reepitelização completa e aplanamento da borda das lesões, desaparecimento da rigidez da base da lesão, desaparecimento de eventual linfangite ou adenite e ausência de novas lesões (OPAS, 2021).

Das possibilidades de novas abordagens terapêuticas já testadas para a Leishmaniose e implementadas ou não pelos SUS, a Ozonioterapia (TO_3) e Terapia Fotodinâmica (TFD) são possibilidades de tratamento que poderiam ser opções aos agentes de saúde, principalmente em áreas remotas do país.

2.2 Terapia Fotodinâmica (TFD)

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma técnica terapêutica que visa a apoptose celular, sendo empregada no tratamento de diferentes tipos de câncer e também como protocolo microbicida (PINHEIRO; ALMEIDA; SOARES, 2017). A TFD envolve a utilização de um composto fotossensibilizador aplicado no local alvo, seguido da irradiação luminosa do tecido alvo com luz de comprimento de onda específico que, na presença de oxigênio, leva a uma série de reações fotoquímicas que ocasionam a formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (LEE et al., 2020; SIMOES et al., 2020) ocorrendo duas reações principais, conhecidas como reação tipo I e reação tipo II (BARBOSA, 2012) (Figura 3).

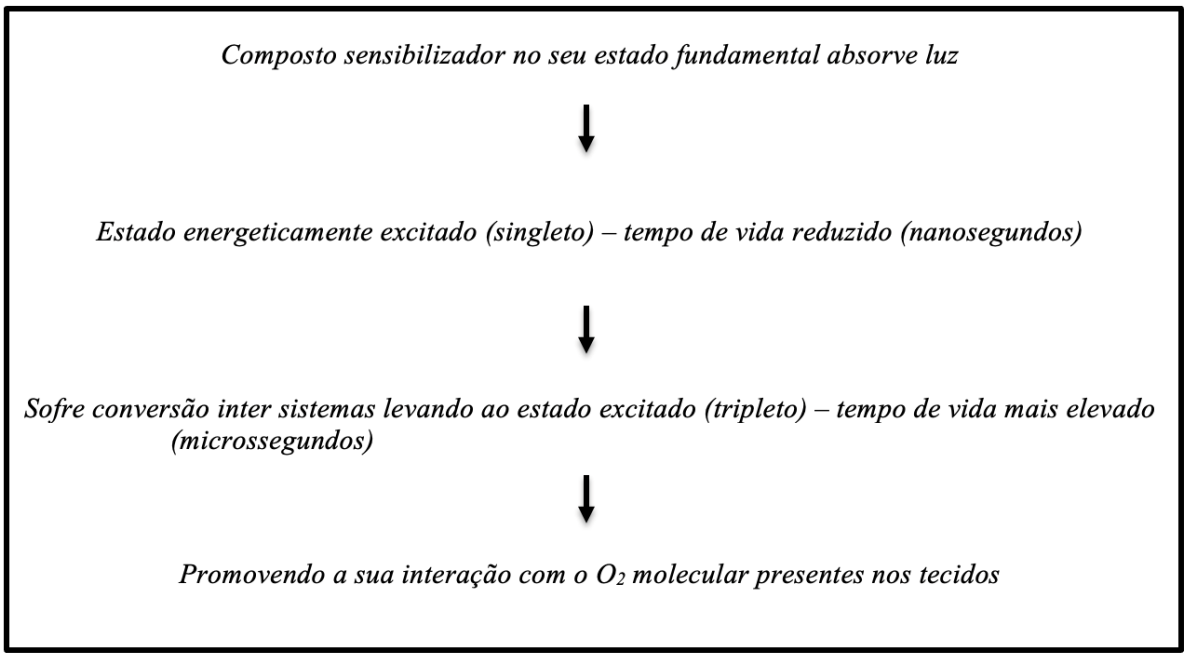

Figura 3. Princípios da Terapia Fotodinâmica
Fonte: Adaptado de FITZGERALD, 2017.

Na reação do tipo I, a absorção da radiação luminosa leva o fotossensibilizante a um estado excitado, que reage diretamente com o substrato produzindo radicais. Esses radicais reagem com o oxigênio molecular formando radicais superóxidos, altamente citotóxicos, ocasionado danos diretos a célula (NONELL; FLORS, 2016).

Na reação do tipo II, o fotossensibilizante no estado excitado reage com o oxigênio molecular, formando oxigênio singleto ($O^{\bar{}}$). Essas Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) ocasionam danos estruturais e inibe as atividades funcionais das subestruturas celulares, o que resulta no apoptose da célula (NONELL; FLORS, 2016). O oxigênio singleto é extremamente

reativo e pode interagir com muitos substratos biológicos, induzindo danos oxidativos (FITZGERALD, 2017).

Há ainda na literatura a existência de uma reação tipo III. Nesta, o fotossensibilizador, no estado excitado, se liga diretamente a biomoléculas como o ácido ribonucleico (RNA), proteínas ou Desoxirribonucleico (DNA), promovendo sua destruição de células de maneira independente de oxigênio (LIMA; REIS, 2023; ALLISON; SIBATA, 2010).

Vale ressaltar que apenas um número restrito de fotossensibilizadores com característica de seletividade intrínseca, entre estes as ftalocianinas e as clorinas, oferecem maior seletividade e melhor penetração tecidual-alvo, especialmente, no espectro do infravermelho próximo (700 a 2500 nm) (YAO et al., 2022).

Ribeiro et al. (2019), com o objetivo de estudar a eficácia em camundongos utilizando antimoniato de N-metil glucamina associado à terapia fotodinâmica (TFD) com ftalocianina de cloroalumínio lipossomal tópico no tratamento de LTC, observaram uma redução significativa no diâmetro da lesão de pata e na contagem do parasita, mostrando ser mais eficaz do que o tratamento convencional.

Naim et al. (2021), em um estudo *in vitro* e *in vivo*, avaliaram a eficácia da TFD usando azul de toluidina como fotossensibilizador e fonte luminosa por diodo emissor LED de 630 nm no tratamento da LTA, relataram que TFD diminuiu a viabilidade das formas amastigotas e promastigotas e não observaram efeitos de toxicidade nos macrófagos infectados dos camundongos, mas obteve efeito deletério quando os parasitas estavam dentro das células.

Marcolino et al. (2024) realizaram um estudo para avaliar a resposta da TFD com nanopartículas de albumina bovina (BSA) catiônicas e aniônicas encapsuladas com curcumina, e concluíram que a curcumina carregada em nanopartículas de BSA tem potencial em sistemas de entrega de medicamentos para protocolos de TFD.

Cabral et al. (2024) em seu estudo *in vitro* e *in vivo*, utilizando a TFD com azul 1,9-dimetil-metileno em conjunto com a miltefosina, demonstraram que o tratamento foi eficaz contra *L. amazonensis* resistente a medicamentos. Segundo os autores, a TFD foi eficaz na morte de cepas de *L. amazonensis* aumentando EROs, com grande atividade anti-leishmania *in vivo*, favorecendo a redução da dose de miltefosina pela metade nos camundongos infectados quando se aplicou DE 7,8 J/cm^2, e que a combinação de medicamento com o TFD pode ser vantajosa para aumentar a eficácia terapêutica e diminuir o tempo do tratamento reduzindo custos e prevenindo de cepas resistentes.

Fotossensibilizador (FS) - Azul de metileno

O fotossensibilizador (FS) é um composto que atua como pró-fármaco, que pode ser natural ou sintético, e que na presença da luz em um comprimento de onda específico absorve parte dessa energia luminosa (fotoativação) desencadeando reações químicas nas células e tecidos alvos para obtenção dos resultados de apoptose celular (PINHEIRO; ALMEIDA; SOARES, 2017; PERUSSI, 2007).

As fenotiazinas têm grande absorção na faixa espectral entre 620 a 660 nm, comprimentos de onda com grande relevância para os efeitos desejáveis devido a boa penetração nos tecidos biológicos. Destaca-se neste grupo, o corante azul de metileno (AM) (ALVES, 2014), amplamente conhecido, com diversos usos na TFD para o tratamento de lesões cutâneas (SPERANDIO et al., 2010).

O AM é uma molécula que pertence a classe dos compostos benzofenotiazinios (WAINWRIGHT, 2005) de coloração azul e com banda de absorção na região de 550 a 770 nm (PINHEIRO; ALMEIDA; SOARES, 2017). A seletividade deste fotossensibilizador pela mitocôndria pode ser explicada pela sua lipofílicidade**,** que lhe confere afinidade por componentes lipídicos, e por carga elétrica positiva, devido ao ambiente eletroquímico negativo da matriz mitocondrial (GABRIELLI et al., 2004).

O AM possui baixa toxicidade em humanos (WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002), é sintético, solúvel em água, e se acumula nas células alvo desencadeando uma resposta eficiente quando aplicado sob a luz vermelha (AURELIANO et al., 2018). O AM quando ativado pela luz atinge o estado excitado, e que pode retornar ao estado singleto fundamental ou sofrer conversão para o estado tripleto. No estado tripleto, o AM pode reagir com o oxigênio molecular (O_2) para gerar oxigênio singleto, retornando em seguida ao seu estado basal, e produzir superóxido ou pode interagir com substratos biológicos ocasionando à formação de outras EROS responsáveis pela ação citotóxica em células ou patógenos (FLOYD; SCHNEIDER; DITTME, 2004).

Barbosa (2012), em um estudo *in vitro* avaliou a eficácia fotoquímica antiparasitária como uma nova abordagem para o tratamento da leishmaniose, com laser emitindo em 660 nm, DE 4,2 a 8,4 J/cm^2, utilizando os derivados fenotiazínicos nas concentrações de 5 e 10 μg/mL do azul de metileno, azul de toluidina, e a mistura de 1:1 de ambos os compostos contra ao parasita na forma promastigota de *L. braziliensis*, verificou que após o tratamento, houve a diminuição no número de parasitas viáveis em todos os grupos tratados em comparação aos

grupos controles, sendo que a letalidade foi maior quando aplicou-se a concentração de 10 μg/mL do azul de toluidina (BARBOSA, 2012).

Song et al. (2011) observaram que o uso de antimoniato de meglumina em combinação com o protocolo de TFD utilizando o AM, produziu efeito satisfatório com a recuperação mais rápida da lesão quando comparado somente com o uso do medicamento isoladamente, e que a redução da viabilidade parasitária foi de até 80% *in vitro*, com a aceleração do processo de cicatrização *in vivo* (em humano) quando comparado com o tratamento convencional do SUS.

Aureliano et al. (2018), em um estudo *in vitro*, com o objetivo de procurar os melhores parâmetros para erradicar a *L. amazonensis* e investigar as vias de morte celular envolvidas na TFD nos parasitas, utilizando AM e LED em 645 nm, afirmaram que a TFD alterou a permeabilidade da membrana celular com a despolarização do potencial da membrana mitocondrial. Os autores constataram também que a TFD promoveu mudanças estruturais dos parasitas, como encolhimento celular, vacuolização intensa do citoplasma, aumento do complexo mitocôndrio-cinetoplasto e pequenas bolhas no flagelo do parasita e na membrana celular, desempenhando um papel fundamental na suscetibilidade celular devido a apoptose celular com a morte do parasita da *L. amazonensis.*

Segundo Akilov et al. (2006), um dos principais componentes da superfície externa dos parasitas de *Leishmania* responsáveis pela carga elétrica negativa da superfície da membrana é o lipofosfoglicano (LPG), um polímero de unidades de repetição de dissacarídeo fosforilado ligado a um núcleo de polissacarídeo ligado a um lipídeo. Ressalta-se que, no tecido os parasitas *de Leishmania* estão localizados predominantemente intracelular, e assim, o efeito direto da TFD pode destruir tanto os parasitas quanto as células infectadas (AKILOV et al., 2006).

Pinto et al. (2017), no seu estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar a internalização do AM e o impacto da TFD na viabilidade e morfologia da *Leishmania major* e *Leishmania braziliensis* na forma promastigota em meio de cultura, notaram que a TFD desencadeou mudanças morfológicas nas estruturas do parasita com potencial promissor para aplicações clínicas, principalmente pelo seu baixo custo e permanência no citosol celular.

Peloi et al. (2011) em um estudo *in vivo* utilizando TFD e AM para LTA em hamsters infectados (n=38) experimentalmente com *Leishmania* (*L.) amazonensis*, notaram que o grupo controle tratado apenas com AM em loção ou água sem irradiação da luz LED não impediram o avanço da lesão, e após 12 semanas os animais dos grupos tratados com TFD estavam curados. Volpe et al. (2018), ao avaliarem a TFD associada aos medicamentos convencionais em camundongos infectados com *Leishmania (L.) amazonensis*, não encontraram diferenças estatísticas entre os grupos testados (p>0,05) quando avaliaram as medidas de volume e

espessura dos coxins plantares dos pés infectados nos grupos tratados quando comparados com o grupo controle. No entanto, houve uma redução significativa ($p<0,05$) na carga parasitária dos linfonodos poplíteos dos grupos tratados quando comparados ao grupo controle, pois embora não tenham apresentado diferença estatísticas houve uma tendência de medição descendente no grupo tratado com Glucantime® associado a TFD.

Nos estudos de Cabral et al. (2020) visou-se avaliar a TFD com AM em *Leishmania amazonensis* nos ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando LED vermelho (λ =660 nm) e AM em diferentes DE. Os resultados mostraram que *in vitro*, a dose letal para 90% de inativação do parasita foi com DE 48,8 J/cm^2, enquanto nos ensaios *in vivo* (camundongos), o grupo que recebeu duas sessões com DE 150 J/cm^2 foram clinicamente melhores considerando o processo inflamatório associado à LTA.

Contudo, a TFD com AM mostra-se uma estratégia acessível e eficaz contra lesões cutâneas de leishmaniose conforme já evidenciado nos estudos de Demidova (2005), Kandri et al. (2020), Peloi et al. (2011) e Song et al. (2011). Entre as principais vantagens para o uso do AM considera-se um produto de fácil acesso, custo acessível, boa penetração tecidual com luz vermelha, forte afinidade por estruturas microbianas (DNA, membranas) e seguro em baixas concentrações com pouca toxicidade sistêmica. Porém, entre as limitações encontradas para o uso deste produto é a fotodegradação rápida, baixa seletividade tumoral e menos penetração quando comparado a outros fotossensibilizadores, como as porfirinas, clorinas e ftalocianinas (PELOI et al., 2011; SONG et al., 2011; WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002).

Muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas para a LTA visando diferentes técnicas aplicadas em diferentes protocolos a serem testados, como a ozonioterapia.

2.3 Ozonioterapia

O ozônio (O3) é uma substância gasosa natural, forma alotrópica do elemento químico oxigênio (O), composto por três átomos de oxigênio, caracterizado por um odor forte, extremamente instável, encontrada na estratosfera terrestre, produzida pela interação da luz ultravioleta do sol (λ = 255 nm) com o gás oxigênio presente na atmosfera; trata-se de uma molécula triatômica de oxigênio instável, em que o terceiro átomo se dissocia tornando-se ionizante a fim de combinar com outra estrutura, ficando então a molécula de oxigênio (O_2) restabelecida (WAYNE, 2000).

O O_3 é um agente oxidante com grande produção de radicais livres quando aplicado em tecidos biológicos, como consequência, há oxidação dos componentes bioquímicos presentes

na parede celular e membrana plasmática resultando em alteração da permeabilidade e ocasionando a lise celular. Ao mesmo tempo, o ozônio melhora o metabolismo mitocondrial levando a produção de Adenosina Trifosfato (ATP) proporcionando processos biológicos mais eficientes como à cicatrização e a redução da anti-inflamação em lesões de pele, capaz de eliminar fungos, bactérias e outros microrganismos que afetam o homem (LIMA; FELIX; CARDOSO, 2021).

O mecanismo de ação do ozônio se baseia em duas reações denominadas de primária e secundária, na primeira age como biomodulador através da formação de EROs, principalmente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que atua como sinalizador intracelular, e na segunda com produtos de oxidação lipídica (LOPs) de efeitos tardios formando aldeídos e ozonídeos que atuam como mensageiros de longa duração com finalidade terapêutica (BOCCI, 2011).

O peroxido de hidrogênio (H_2O_2) em pequenas quantidades ativa vias de sinalização: ativa os fatores de transcrição (Nrf2), que aumentam a expressão de enzimas antioxidantes (Superóxido dismutase - SOD, catalase, glutationa peroxidase) e estimula a liberação de óxido nítrico (NO) melhorando a vasodilatação e a circulação, modulando o sistema imune com o aumento de citocinas pró e anti-inflamatórias (BOCCI, 2011).

A produção do ozônio terapêutico pode ser realizada pelo gerador de ozônio medicinal que através de uma descarga elétrica, produzida por uma elevada tensão elétrica, ocasiona a quebra da molécula de oxigênio e, na sequência, a reorganização das moléculas, criando uma mistura gasosa composta por oxigênio e ozônio. Aplicada terapeuticamente em diferentes concentrações de acordo com a patologia, a técnica é denominada de Ozonioterapia (BOCCI, 2011).

O gerador de ozônio deve ser capaz de gerar uma mistura gasosa de oxigênio e ozônio com diferentes faixas de concentrações de ozônio, na janela terapêutica de 1 a 80 μg /mL, como consta na Declaração de Madri, elaborada pelo Comitê Científico Internacional de Ozonioterapia (ISCO, 2020). A taxa de alimentação do ozônio (mg/min.) é o produto da vazão do oxigênio medicinal (L/min.) na entrada do gerador de ozônio multiplicado pela concentração de ozônio na saída do gerador (mg/L). A dosagem de ozônio aplicada será a multiplicação da taxa de alimentação do ozônio (mg/min.) pelo tempo de ozonização (min.) dividido pelo tamanho da amostra em área (cm^2) (VAN LEEUWEN, 2015).

De acordo com a Declaração de Madri (ISCO, 2020), as dosagens de ozônio variam conforme o efeito terapêutico desejado, dosagens baixas são recomendadas para se obter o efeito imunomodulador, principalmente em doenças autoimunes; dosagens médias apresentam o efeito imunomodulador e anti-inflamatório e as dosagens altas são indicadas para as lesões

cutâneas infectadas para se obter debridamento das lesões e favorecer o processo de cicatrização.

A ozonioterapia pode ser aplicada por diferentes veículos incorporados com o ozônio sendo mais comumente utilizados em óleo vegetal, água, solução salina e na forma direta com a aplicação do gás ozônio nas áreas lesionadas na pele. Em se tratando do uso de ozônio para tratamento de feridas de leishmaniose, os trabalhos mostraram resultados promissores utilizando principalmente óleos vegetais ozonizados para tratamento de dermatites em animais e em ensaios *in vitro* (AGHAEI et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; RAJABI et al., 2015).

O óleo vegetal ozonizado quando utilizado em ferimentos cutâneos crônicos, devido a presença dos ozonídeos formados, estimulam o processo reparativo celular. A aplicação do óleo ozonizado em tecido inflamado aumenta a quantidade de leucócitos locais e a liberação de fatores de crescimentos pelos eritrócitos e plaquetas para a reconstrução tecidual pela construção da matriz extracelular, levando a síntese de proteínas (BOCCI, 2006).

Rajabi et al. (2015), em um estudo *in vitro* avaliando os efeitos do azeite de oliva ozonizado, contra formas promastigotas de *Leishmania* sp., avaliaram o potencial leishmanicida ocasionado pela peroxidação, levando a lise da parede celular e membranas citoplasmáticas do parasito. Óleos ozonizados estimulam sistemas enzimáticos antioxidantes, por ativar as reações de oxigênio dependentes do metabolismo e do ciclo de Krebs, influenciando a cadeia respiratória mitocondrial, importantes para restaurar a capacidade de atenuar os sistemas de defesa antioxidantes contra as EROs, por isto modula a resposta imune e o metabolismo tissular (MAYOR et al., 2010).

Taghizadeh et al. (2024) em um estudo com o objetivo de determinar o efeito de nanoemulsões revestidas com quitosana de azeite ozonizado no promastigota/amastigota de *Leishmania in vitro*, demonstraram as doses mais baixas da formulação de nanoemulsões ozonizadas de quitosana podem inibir o crescimento de promastigota e amastigota de *L. major in vitro*, não sendo tóxicos para os macrófagos.

Aghaei et al. (2019), em seu estudo com pacientes de leishmaniose cutânea com até três lesões com área de 1 a 5 cm², relataram que após oito semanas de acompanhamento de um tratamento com o óleo ozonizado associado ao medicamento convencional injetável obteve o melhor processo de cicatrização das lesões e aumento da produção de IL-2, TNF, IFN, ativação da via do NF-KB, fator de crescimento e transformação (TGF) pela via da tirosina quinase, aumentando produção de citocinas para o remodelamento tissular.

Em relação ao veículo água ozonizada, Alcoforado (2012) aplicando hidrozonioterapia para o tratamento da LTA em relato de caso em humano, constatou melhora significativa das lesões cutâneas em relação ao protocolo terapêutico convencional do SUS.

Contudo, ainda há poucas pesquisas utilizando a bolsa plástica em pacientes humanos acometidos por leishmaniose tegumentar, administrado na forma gasosa diretamente sobre a área da lesão. Faraji et al. (2021) ao utilizarem a bolsa plástica ("bag") para a ozonioterapia associada ao curativo de prata, obteve resultados satisfatórios em paciente com ferida infectada, utilizando a concentração de ozônio de 70 mg/L por 20 minutos, a cada três dias pelo período de 30 dias, e após cada sessão a ferida era coberta por gazes impregnadas por alginato de prata, acelerando o crescimento do tecido para o preenchimento da área lesionada. Dados também encontrados nos estudos por Mendes et al. (2021), de caráter exploratório descritivo, transversal e retrospectivo, com 20 pacientes acometidos por feridas crônicas submetidos ao tratamento com ozônio.

Pasek et al. (2024), ao estudarem o processo de cicatrização em pacientes com úlceras neuropáticas e isquêmicas do pé diabético submetidos ao gás ozônio pela bolsa plástica utilizando a concentração de ozônio de 40 mg/L, uma vez por dia durante cinco dias consecutivos, com duração de 30 minutos cada sessão, concluíram que a ozonioterapia utilizando a bolsa plástica foi eficaz na promoção da cicatrização das feridas com diminuição dos sintomas de dor nos pacientes e a cura da lesão.

A aplicação do gás ozônio pode ser realizada por meio da insuflação de bolsa plástica resistente descrito na literatura como "*bag"* ou bolsa de plástico de ozônio, mas ainda há na literatura outras formas de aplicações como bota de baixa pressão - bota de Rokitansky e ventosa de ozônio. Destaca-se, que antes da aplicação do ozônio gasoso, o ambiente precisa ser preparado para o procedimento com áreas bem ventiladas e equipamentos de proteção individual. Durante os procedimentos, o equipamento gerador de ozônio permanece ligado liberando o gás dentro da bolsa plástica, atingindo assim toda a área da ferida, com concentrações de ozônio que podem variar de 50 a 80 mg/L e pelo período de até 30 minutos (MASLENNIKOV et al., 2008). Com o controle da infecção e com o crescimento do tecido saudável, a frequência e a concentração do procedimento devem ser diminuídas de forma gradativa para que ocorra o processo de cicatrização (SCHWARTZ; SANCHEZ, 2012).

O mecanismo de ação do ozônio, via bolsa plástica em feridas cutâneas, ocorre através do contato direto do ozônio com a ferida úmida ocasionando reações imediatas (BOCCI, 2011). As EROs formadas pelos efeitos do gás ozônio ocasionam o efeito antiparasitário direto sobre o protozoário *Leishmania spp.*, além de atuarem como antimicrobianos contra bactérias e

fungos oportunistas (ELVIS; EKTA, 2011), frequentemente presentes nas feridas infectadas de leishmaniose. Como aditivo, o uso do ozônio também favorece a redução da inflamação crônica, melhora da oxigenação tecidual e acelera o processo de cicatrização cutâneo (BOCCI et al., 2009). Segundo Liu et al. (2023), em pacientes com feridas infectadas, o mecanismo terapêutico mais importante da terapia tópica de ozônio aplicada é o efeito bactericida do ozônio pela ruptura das membranas celulares bacterianas, devido à oxidação dos ácidos graxos não saturados e proteínas enzimáticas situadas no citoplasma bacteriano, levando à apoptose de células bacterianas.

Kim et al. (2010) relataram que o ozônio atua diretamente no microorganismos danificando a membrana, consequentemente a permeabilidade aumenta e os produtos gerados oriundos da ozonização com o tecido biológico são facilitados para o interior celular. Contudo, o ozônio também pode induzir e regular leucócitos e macrófagos, impactando positivamente o processo de cicatrização de feridas (LIU et al., 2023). Todavia, a cicatrização de uma ferida envolve três fases (inflamatória, proliferativa e reparatória); fases que se sobrepõem e influenciam na dinâmica do processo de cicatrização. As plaquetas são indispensáveis durante todas as fases do processo de cicatrização e o ozônio promove a agregação plaquetária (VALACCHI; BOCCI, 1999).

3 METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

A pesquisa foi aplicada em seres humanos após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), sob parecer nº 5.901.332, CAAE: 65198122.7.0000.5492. A participação foi mediante leitura e explicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aos sujeitos da pesquisa, com autorização através de assinatura deste termo, sendo que uma via do TCLE (assinada e rubricada) ficou com o participante e a outra com o pesquisador, e do Termo de compromisso de utilização dos dados (TCUD), os quais firmam compromisso com os pesquisados e pesquisadores. A pesquisa obedeceu a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde que estabelece diretrizes e normas regulamentadoras quanto aos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos: autonomia, não maleficência, beneficência e justiça, não estigmatização, confidencialidade, privacidade, voluntariedade e equidade.

3.2 Caracterização da amostra

Pacientes (*n*=40), notificados com leishmaniose tegumentar americana cutânea na Divisão de Vigilância em Saúde (DIVISA) em Santarém, Belterra e Itaituba, Pará/Brasil, foram convidados a participarem desta pesquisa como voluntários.

Após serem avaliados, os voluntários passaram pelos critérios de inclusão (diagnóstico confirmado, através do exame parasitológico direto utilizando a técnica de coloração de Giemsa, para LTAC; lesão única, idade acima de 18 anos), e pelos critérios de exclusão, tais como, indivíduos que receberam o tratamento convencional medicamentoso por via oral na unidade de saúde (miltefosina), pacientes que não tiveram interesse em participar da pesquisa, pacientes que apresentaram outras patologias concomitantes a Leishmaniose Cutânea (Hanseníase, Diabetes mellitus e Vírus da Imunodeficiência Humana) e contraindicações aos protocolos utilizados - terapia fotodinâmica, ozonioterapia e tratamento convencional com o uso de Glucantime®, conforme apresentado no esquema a seguir (Figura 4).

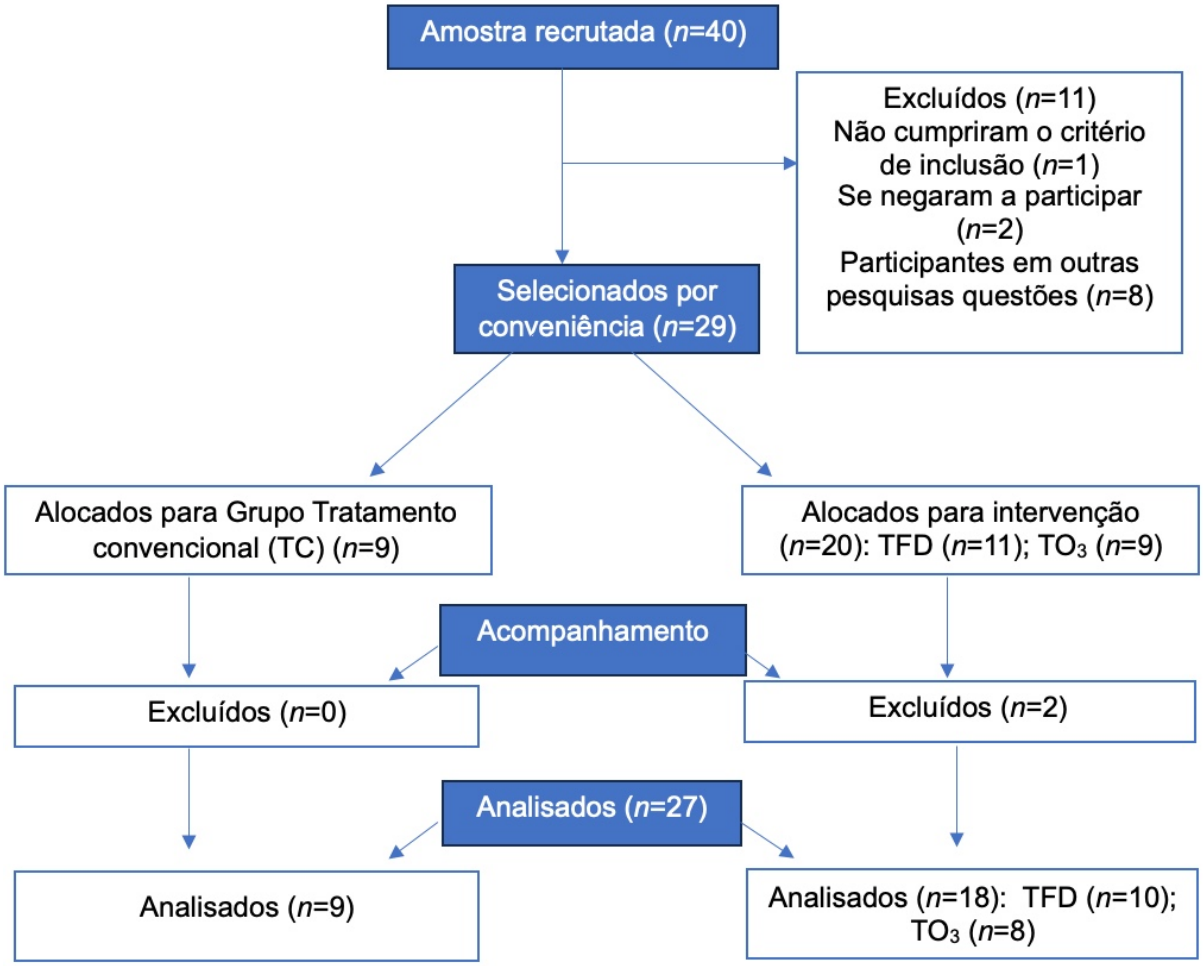

Figura 4. Diagrama esquemático demonstrando a distribuição dos pacientes durante os tratamentos propostos na pesquisa.
Legenda: TC – Tratamento Convencional, TFD – Terapia Fotodinâmica e TO_3 – Ozonioterapia.

3.3 Caracterização do local da pesquisa

A pesquisa ocorreu em parceria com o Departamento da Secretaria Municipal de Saúde, na Divisão de Vigilância de Saúde dos Municípios de Santarém, Belterra e Itaituba, no estado do Pará para se obter informações referentes ao tratamento dos pacientes e realização dos curativos.

O município de Santarém, está localizado na região do Baixo Amazonas, com latitude 2º26'34" sul e longitude 54º42'28"oeste, com uma população de 308.339 habitantes, segundo o censo realizado em 2020 pelo IBGE. Atualmente, o município conta com dois hospitais públicos, um regional do Baixo Amazonas e um municipal, além de clínicas e dois hospitais particulares; Belterra é um município pertencente ao Baixo Amazonas, com uma latitude 02º 38' 11" sul e longitude 54º 56' 14" oeste, distante cerca de 45 km do município de Santarém, e

área de 4.398 km² que abriga uma população de 17.839 habitantes, possui um hospital público e nove unidades básicas de saúde; Itaituba é um município pertencente ao Sudoeste do Pará, com latitude 04º16'34" sul e longitude 55º59'01" oeste, possui área de 62.040,947 km² e população de 123.312 habitantes, e o município de Itaituba, tem sua economia baseada na extração do ouro no Vale do Tapajós, com um crescimento desorganizado da cidade, pobreza, grande área de degradação ambiental devido as atividades de garimpo ilegal, contando atualmente com dois hospitais públicos e três particulares (IBGE, 2020) (Figura 5).

Figura 5. Georreferenciamento por satélite para a localização dos municípios de Belterra, Itaituba e Santarém no estado do Pará, Brasil do estudo proposto.
Fonte: GOOGLE EARTH, 2025. Escala: 200 km.

3.4 Equipamentos utilizados na pesquisa

Equipamento emissor fotônico

Equipamento emissor fotônico da marca Medical Systems, modelo MSRED, emitindo luz em 630 nm, composto por 35 unidades de LEDs, área de irradiação de 20 cm^2, densidade de potência óptica de 30 mW/cm^2, bivolt automático, com dimensões de 24cm x 7cm (Figura 6).

Figura 6. Equipamento para a Terapia Fotodinâmica
Fonte: MEDICAL SYSTEMS, 2023.

Equipamento gerador de ozônio

Equipamento gerador de ozônio, da marca Ozone & Life®, modelo O&L 1.5M (Figura 7), com dimensões 44 cm x 39,5 cm x 16 cm e peso de 7,5 kgf, acoplado ao cilindro de oxigênio medicinal com válvula reguladora de fluxo (L/Min), e filtro catalisador de ozônio para eliminar o excedente O_3 produzido; atinge a concentração máxima de 65 mg/L.

Figura 7. Equipamento gerador de ozônio para o tratamento medicinal.
Fonte: OZONE & LIFE, 2023.

Câmera HD de smartphone

Câmera HD de smartphone (N° do modelo MRYD2BR/A, número de série DV6YP3DTKXK8, iPhone IOS 6, foco automático, sensor sony, Apple Inc., CA, EUA), com resolução de 3024x4032 pixels, foi utilizada para os registros fotográficos das lesões cutâneas acometidas por LTAC. Uma régua métrica foi utilizada como escala de medida de referência (Figura 8). As imagens fotográficas obtidas a uma distância de 15 cm da ferida foram processadas no software ImageJ® (v.1.54d, Rayne Rasband, National Institute of Health, USA), para a mensuração das áreas lesionadas.

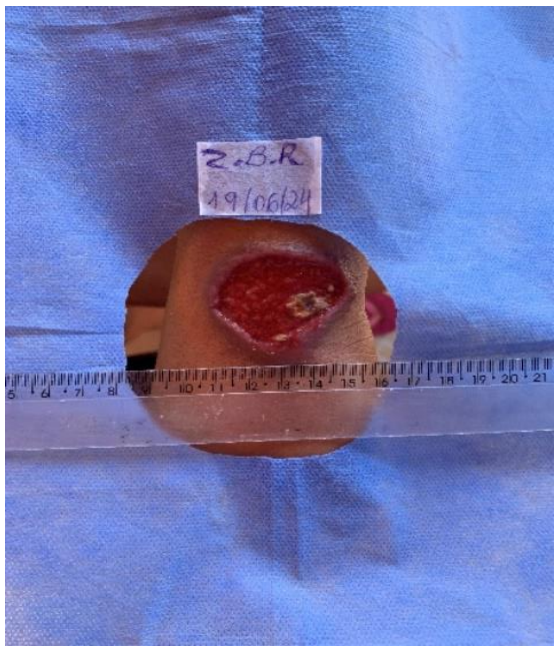

Figura 8. Imagem fotográfica apresentando a lesão cutânea gerada por LTAC, constando também escala dimensional de referência a fim de permitir via Image J®, o cálculo da área da ferida.

3.5 Protocolos Terapêuticos

Realizou-se um estudo clínico experimental, longitudinal, com amostragem de conveniência. Os participantes (*n*=29) foram divididos em três grupos de tratamento, de acordo com regiões das áreas lesionadas, conforme o quadro abaixo:

Quadro 1. Distribuição dos pacientes nos grupos de tratamento das lesões de LTAC.

Grupos	Protocolos	*N*	Características
1	Tratamento SUS= Apenas Glucantime®	9	Participantes que receberam apenas tratamento medicamentoso de LTAC e curativo preconizado pelo SUS com lesões em qualquer área do corpo.
2	Terapia Fotodinâmica + Glucantime®	10	Participantes com lesões na face ou membros superiores e inferiores.
3	Ozônio+Glucantime®	10	Participantes com lesões somente nos membros (superiores ou inferiores).

Ressalta-se que, a terapia com ozônio foi aplicada apenas nos membros superiores e inferiores devido a contraindicação referente ao risco de inalação do ozônio para uso na face.

Etapas do Protocolo do Tratamento convencional do SUS com Glucantime® - GRUPO 1 (Controle)

Foram realizados os curativos convencionais de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde (2017) em lesões tegumentares cutânea pela leishmaniose, consistindo nas seguintes etapas (Tabela 1):

Tabela 1. Etapas dos procedimentos realizados no grupo tratamento convencional (TC) que foi comum a todos os grupos estudados.

Etapas	Procedimentos
1	Limpeza adequada da ferida, irrigando o leito com soro fisiológico a 0,9% (volume 100 ml, marca Uniphar®) em jato a uma distância de 20 cm;
2	Limpeza da pele adjacente à ferida feita com gaze umedecida com soro fisiológico e em caso de sujidade;
3	Exame da área da ferida cuidadosamente observando pele e adjacências (coloração, hematomas, saliências), aparência das bordas, características do exsudato, presença de tecido necrosado, de granulação, sinais de infecção (hiperemia, edema, calor, dor);
4	Registros fotográficos da lesão com a inserção de escala métrica (semanalmente);
5	Aplicação da cobertura primária (óleo de girassol, marca Dermaex, 100 ml, ANVISA nº: 80451960191) na lesão (Figura 9)
6	Em seguida, oclusão da ferida com gazes estéreis (cobertura secundária) e fixação com esparadrapo, micropore ou atadura de crepe, quando necessário;

Este procedimento ocorreu uma vez por semana ou quinzenalmente (pacientes que receberam tratamento intralesional a cada 15 dias), de acordo com a frequência do paciente a Unidade de saúde, para a aplicação do medicamento Glucantime® endovenoso ou intralesional, conforme a prescrição médica. Neste momento, registros fotográficos eram realizados para o acompanhamento das lesões.

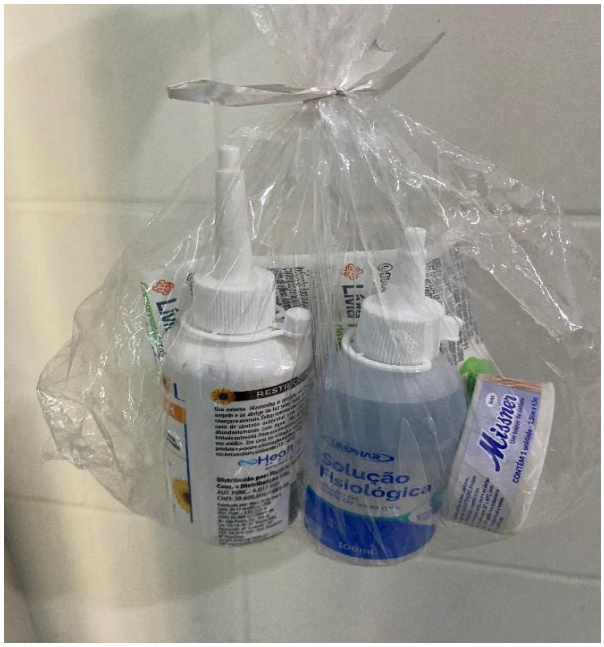

Figura 9. Kit de curativo para tratamento convencional preconizado pelo SUS.

Etapas do protocolo com o tratamento com Terapia Fotodinâmica (TFD) - GRUPO 2

Foram realizados no primeiro momento os procedimentos convencionais de limpeza da ferida de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde (2017), conforme o grupo controle convencional, e na sequência realizou-se o protocolo terapêutico TFD que consistiu nas seguintes etapas apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Etapas dos procedimentos realizados no grupo da terapia fotodinâmica (grupo TFD).

Etapas	Procedimentos
1	Realizou-se no primeiro passo a limpeza da lesão conforme o grupo do tratamento convencional, seguindo as recomendações do Ministério da Saúde (2017);
2	Realizou-se os registros fotográficos (semanalmente para o acompanhamento das lesões);
3	Em seguida foi aplicado o fotossensibilizador Azul de Metileno (AM) a 1%, aguardando por 10 minutos a secagem do produto, em conformidade com os observados em estudos de Aureliano et al. (2018) e Peloil et al. (2011);
4	Aplicou-se o equipamento de LED por 25 minutos na área pintada da lesão (uma distância de aproximadamente 3 cm da ferida), tempo necessário para atingir DE 45 J/cm^2 para cada lesão (Figura 10);
5	Protocolo ocorreu em intervalos a cada 15 dias, até a cicatrização completa;
6	Após o procedimento da TFD a lesão foi fechada com o curativo (gazes, ataduras e micropore ou esparadrapo).

A solução de uso tópico de azul de metileno a 1% foi manipulada no Laboratório da Farmácia Bioativa, em Santarém, Pará, Brasil. A solução foi preparada dissolvendo-se 1,0 g do azul de metileno em 100 mL de água purificada, em seguida foi envasada em um frasco conta-gotas com capacidade para 100ml e um dosador conta gotas de 1 ml (20 gotas, gota padrão de 0,05ml). O espectro de absorção do azul de metileno em solução aquosa 1% apresenta um pico máximo de absorção de luz na região visível, próximo a 665 nm (Figura 10).

A densidade de energia (DE) aplicada para TFD foi calculada através da fórmula obtida nos estudos de Zhu et al. (2025):

Densidade de energia (DE) (J/cm²) = Irradiância (W/cm²) × Tempo (s), com os dados fornecidos pelo fabricante do equipamento aplicou-se na fórmula obtendo-se assim,

$$DE = 0{,}030 \times 1500 = 45\ J/cm^2.$$

Caso a área da lesão fosse maior que o diâmetro do equipamento, a área lesionada era dividida em quadrantes e aplicado a mesma DE em cada quadrante da ferida.

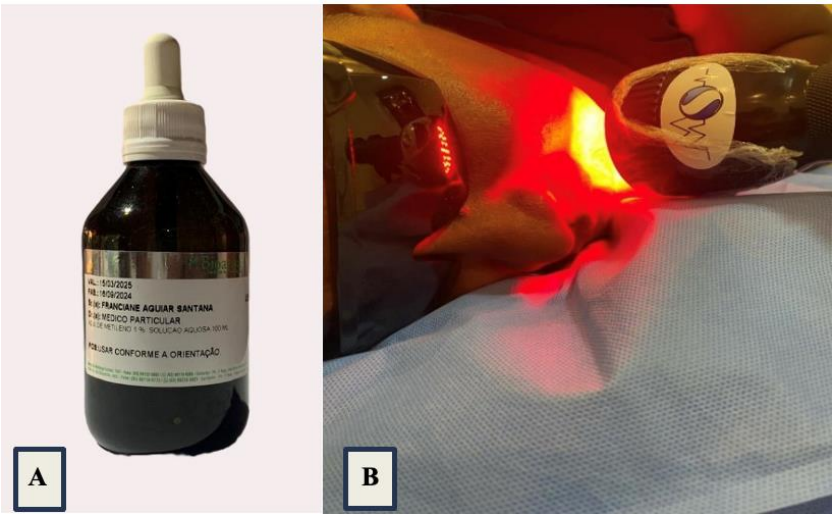

Figura 10. Fotossensibilizador utilizado para a terapia fotodinâmica (azul de metileno a 1%, fabricado por Farmácia de manipulação Bioativa) (**A**) e aplicação de técnica TFD (**B**) na área da face, paciente com óculos de proteção (EPI) durante o procedimento.

Etapas do protocolo com o tratamento Ozonioterapia - GRUPO 3

Foram realizados no primeiro momento os procedimentos convencionais de limpeza da ferida de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde (2017) conforme o grupo controle (tratamento convencional, Tabela 1) e na sequência aplicou-se o protocolo terapêutico ozonioterapia (O_3) que consistiu nas seguintes etapas apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Etapas dos procedimentos realizados no grupo ozonioterapia (TO_3).

Etapas	Procedimentos
1	Limpeza da lesão conforme os procedimentos do grupo 1- tratamento convencional, seguindo as recomendações do Ministério da Saúde (2017);
2	Aplicação do soro fisiológico a 0,9% com gazes estéreis, com propósito de umidificar a lesão;
3	Obtenção dos registros fotográficos;
4	Acondicionou-se o membro com a ferida em bolsa plástica de polietileno, de baixa densidade e tamanho de 40cm x 60cm x 0,20mm (espessura 0,20 mm), para a aplicação da mistura gasosa oxigênio + ozônio;
5	O ozônio foi administrado por 15 minutos, através da bolsa, na concentração de 60 mg/L, fluxo de alimentação do aparelho de 1/8 L/min., considerando as recomendações da Declaração de Madri ((ISCO, 2020);
6	Após o procedimento da ozonioterapia a lesão foi coberta com o curativo padrão convencional conforme recomendação do SUS.
7	O procedimento ocorreu semanalmente (uma vez por semana), considerando o retorno do paciente ao serviço de saúde para receber o medicamento endovenoso do SUS, sendo realizados os registros fotográficos para o acompanhamento das lesões.

O volume total da bolsa plástica preenchida com a mistura gasosa oxigênio + ozônio foi mensurada, resultando em 13 L. Calculou-se a taxa de alimentação do ozônio utilizada neste estudo através da fórmula encontrada nos estudos de Van Leeuwen (2015):

Taxa de Alimentação de O_3 (mg/min.) = Concentração de ozônio (mg/L) x fluxo de alimentação (L/min.)

TCO_3 = 60mg/L x 0,125L/min.= 7,5 mg/min.

A dosagem de ozônio aplicada por paciente foi calculada através da fórmula do estudo de Van Leeuwen (2015):

Dosagem de ozônio (mg/cm^2) = TCO_3 (mg/min.) x Tempo (minuto) / Tamanho da amostra (cm^2)

Dosagem de ozônio (mg/cm^2) = 7,5 mg/min. x 15 min. / Tamanho da amostra (área inicial da ferida em cm^2 por paciente)

O protocolo para a ozonioterapia utilizando a bolsa plástica seguiu as orientações da Declaração de Madri, ou seja, com conexão de entrada e saída do gás ozônio na bolsa plástica, dose recomendada para o tratamento de feridas (ISCO, 2020) e equipamentos de EPI (máscaras de carvão ativado R95) para todos os envolvidos durante o procedimento.

Os pacientes que apresentavam lesões por LTAC nos membros (inferiores ou superiores) foram selecionados para a realização deste protocolo visando a segurança do paciente em casos de inalação acidental da mistura gasosa e facilidade do manuseio da bolsa plástica inflada com o gás. Após a colocação da bolsa no membro manteve-se as conexões de entrada e saída de ozônio evitando que o gás se espalhasse no ambiente, colocando a mangueira de saída do gás em área externa do estabelecimento da sala de curativo.

Por determinação do Departamento da Secretaria Municipal de Saúde, na Divisão de Vigilância de Saúde dos Municípios de Santarém, Belterra e Itaituba/PA, o tratamento medicamento com o Glucantime® foi aplicado em todos os pacientes dos três grupos deste estudo, diversificando a via de administração do mesmo. Alguns pacientes receberam o medicamento via intralesional com aplicações semanais ou quinzenais (volume de 5 mL por lesão), enquanto outros receberam o medicamento pela via endovenosa por 20 dias ininterruptos (com aplicação endovenosa diária de até 15 mL do medicamento).

3.6 Análise dos dados

Para as análises dos dados fotográficos utilizou-se o software Image J® (v.1.54d, Rayne Rasband, National Institute of Health, USA). Este software atua na imagem pela intensidade ou no nível de cinza dos pixels. É gratuito, utilizado para o processamento e análise de imagem para mensuração de área, comprimento, largura de imagens fotográficas.

No programa Image J®, os cálculos das áreas são realizados pela contagem de pixels das regiões selecionadas pelo usuário (HANNICKEL et al., 2012). Os passos para o cálculo da ferida no Image J® consistiu em: abrir a imagem, no ImageJ, em "File" > "Open"; calibrar a imagem, considerou se o objeto de tamanho conhecido (uma régua) na imagem. Depois selecionou-se a ferramenta "Straight Line Tool" e traçou-se uma linha sobre essa referência de tamanho. Em seguida, utilizou-se o menu "Analyze" > "Set scale". Inseriu-se a distância em pixels que havia sido medida e a unidade de medida, " 1 cm". Depois clicou-se em "OK" para aplicar a calibração. A mensuração da área da ferida ocorreu através da seleção da ferida (a ferramenta de seleção utilizada observando o formato da ferida foi a de "Freehand" para contornos irregulares). Assim, com um clique e arraste do mouse foi realizado o delineamento de toda a área da ferida. Em seguida, com a área selecionada, utilizou-se a ferramenta “Analyze" > "Measure". Assim, a área foi exibida na janela "Results".

Os dados obtidos foram tabulados em Excel® e analisados pela estatística descritiva utilizando o programa BioEstat 5.0® com $p \leq 0,1$, baseado em referências de estudos sobre cicatrização tecidual (STEPHAN HARBARTH et al., 2003; KONERU et al., 2007). O teste de normalidade utilizado foi o Teste de Mann Whitney para amostras independentes, não paramétricas.

A taxa média de regressão da cicatrização da lesão foi calculada especificamente para cada lesão por paciente, utilizando sua própria linha de regressão linear, assim os valores da variável x da equação da reta, dada em cm²/semana de cada paciente (GORIN et al., 2023, PRINCE; DODDS, 2006). A taxa média percentual de redução da lesão por paciente foi calculada, considerando o coeficiente de regressão (valor da variável x) dividido pelo tamanho inicial da ferida dada em percentual.

4 RESULTADOS

Foram recrutados para este estudo 40 pacientes com diagnóstico para LTA e em tratamento com Glucantime® pelo Sistema Único de Saúde. Destes foram selecionados 29 indivíduos, mas durante o desenvolvimento dos protocolos restaram 27 pacientes. Dois pacientes (*n*=2) que compunham o grupo 3 – Ozonioterapia, ao finalizarem o tratamento medicamentoso pelo SUS retornaram para suas residências, em outros municípios, interrompendo o tratamento tópico proposto ainda em execução, por este motivo seus dados foram excluídos deste estudo. As características populacionais epidemiológicas dos pacientes tratados estão descritas a seguir.

4.1 Caracterização da população

Os resultados mostraram que a média de idade dos pacientes foi de 37 $\pm$15 anos, com predominância do gênero masculino (74%), com ocupação laboral predominante de garimpeiros, seguido por agricultores, cozinheiras, domésticas e pedreiros. O período médio do início das lesões foi de 2,6 $\pm$1,7 meses do início do surgimento da lesão, e a média de sessões dos protocolos aplicados por paciente foi de 3 $\pm$1,49 sessões. Entre as principais partes do corpo humano acometidas estavam os membros superiores (41%), seguido por membros inferiores (37%) e face (18%), conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Dados epidemiológicos da população com lesões de LTAC em tratamento nesta pesquisa.

INDICADORES	VARIÁVEIS	%	$\bar{x}$ ±dp
SEXO	Feminino	26	-
	Masculino	74	
IDADE	-		37 anos (±15anos)
OCUPAÇÃO	Agricultor	21	-
	Aposentado	4	
	Cozinheira	7	
	Garimpeiro	41	
	Liderança comunitária	4	
	Mecânico	7	
	Pedreiro	4	
	Sem ocupação	4	
TEMPO DE INÍCIO DE SURGIMENTO DAS LESÕES	-		2,6 meses (±1,7 meses)
LOCAL DA LESÃO	Face	18	-
	Membro superior	41	
	Membro inferior	37	
	Tórax	4	
NÚMERO DE SESSÕES	-	-	3,15 (±1,49)

Em relação aos protocolos de tratamentos propostos, os mesmos estão abordados a seguir.

4.2 Evolução das feridas dos pacientes com LTAC submetidas aos diferentes protocolos terapêuticos

Grupo 1 - Tratamento Convencional (TC)

No Grupo 1, pacientes (*n*=9) que receberam exclusivamente o tratamento convencional preconizado pelo SUS para LTAC, constatou-se a média 2,89 ± 0,93 sessões durante o período terapêutico. O esquema adotado pelos órgãos de saúde para os pacientes consistiu em dois protocolos distintos prescrito pela equipe médica. No primeiro protocolo, a aplicação do medicamento foi pela via intralesional, quinzenalmente, para os pacientes 1 a 4, e no segundo protocolo, a medicação foi administrada pela via endovenosa diariamente, nos pacientes 5 a 9 durante 20 dias ininterruptos, dados apresentados na Tabela 5.

As áreas das lesões eram heterogêneas com variações entre 0,30 a 3,12 cm² e média de 1,03 ± 0,82 cm². Quanto à evolução do processo cicatricial, observou-se que apenas 10% dos pacientes apresentaram cicatrização completa e somente um indivíduo não atingiu 50% de redução da lesão, conforme evidenciados na tabela 5.

Tabela 5. Evolução da regressão das lesões (cm^2) por LTAC e o número de atendimentos em semanas por paciente do grupo 1 - Tratamento Convencional (TC).

Pacientes	***Semanas***						
	I	**II**	**III**	**IV**	**V**	**Final**	**Atendimentos**
1	0,93		0,45			0	2
2	0,89		0,16			0,16	2
3	1,29		1,16			1,16	2
4	0,30		0,31			0,31	2
5	3,12	1,14	0,55			0,55	3
6	2,06	1,30	0,68			0,68	3
7	1,14	0,86	0,68	0,51		0,51	4
8	2,68	2,38	2,04	1,76		1,76	4
9	1,99	1,44	0,36	0,25	0,39	0,40	4
Média/Desvio padrão							2,89 (±0,93)

Em relação aos registros fotográficos, constatou-se que os pacientes apresentaram sinais do processo de cicatrização, comparando as imagens do início e do término do tratamento. Sendo que os pacientes 1, 5 e 9 apresentaram uma epitelização do tecido de forma mais eficiente. As lesões evoluíram para a redução de tamanho, com pouco aspecto inflamatório e regeneração tecidual, com cicatrizações incompletas até o término da pesquisa (Figura 11).

As feridas ocasionadas na Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea têm características na maioria das vezes de uma lesão ulcerada ou crostosas, com bordas salientes ou infiltradas e presença de exsudatos, como pode ser notado nas imagens da Figura 11.

A evolução da regressão linear das lesões dos pacientes (P1 a P9) estão dispostos em gráficos da Figura 12, aferindo a área (cm^2) pelo tempo (semanas) em decorrência do período de cicatrização da lesão por LTAC.

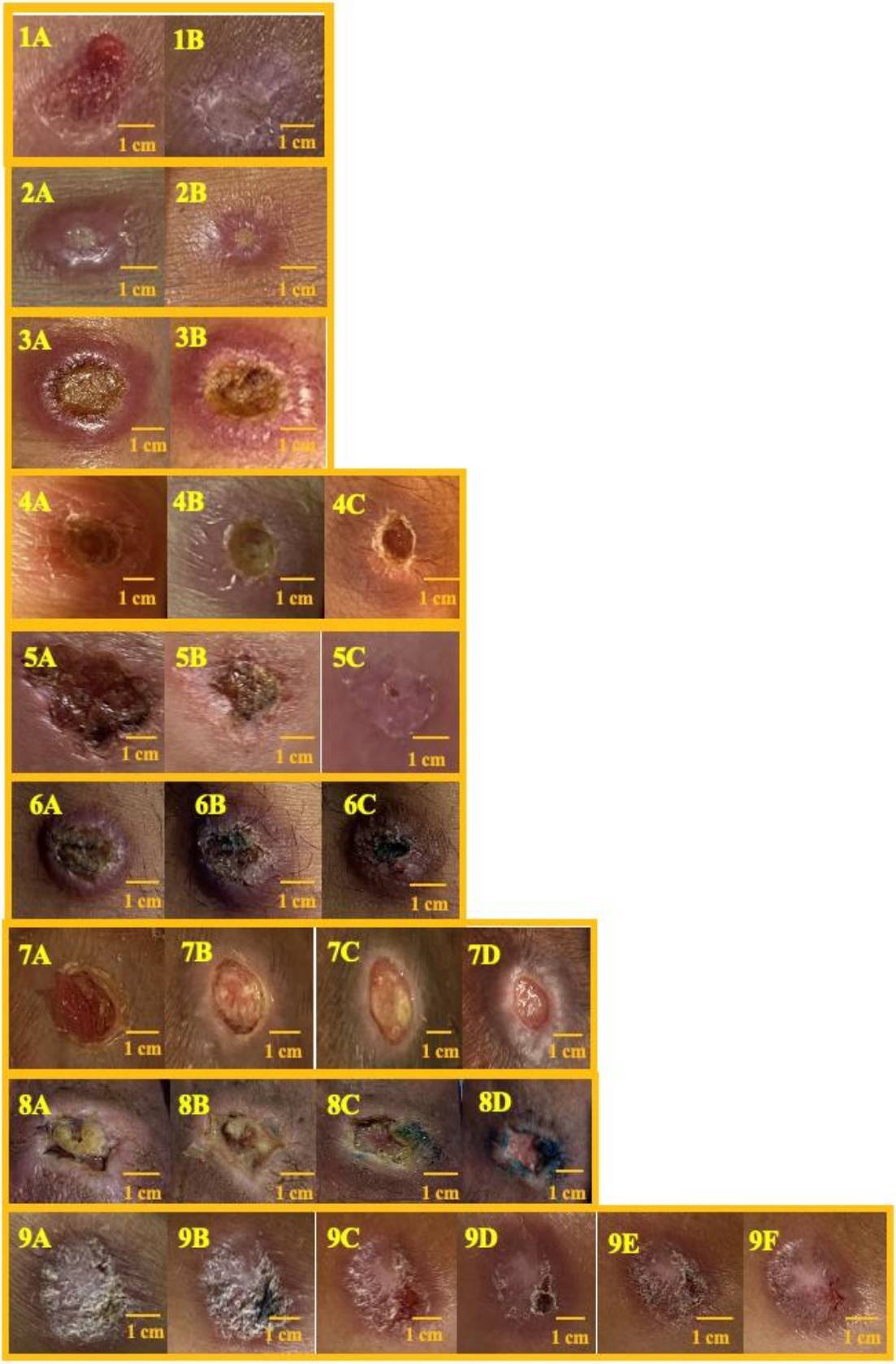

Figura 11. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 9), distribuídos em linhas pelos registros semanais do tratamento convencional pelo SUS. Pacientes 1 a 4 receberam o medicamento intralesional, pacientes de 5 a 9 receberam o medicamento pela via endovenosa.

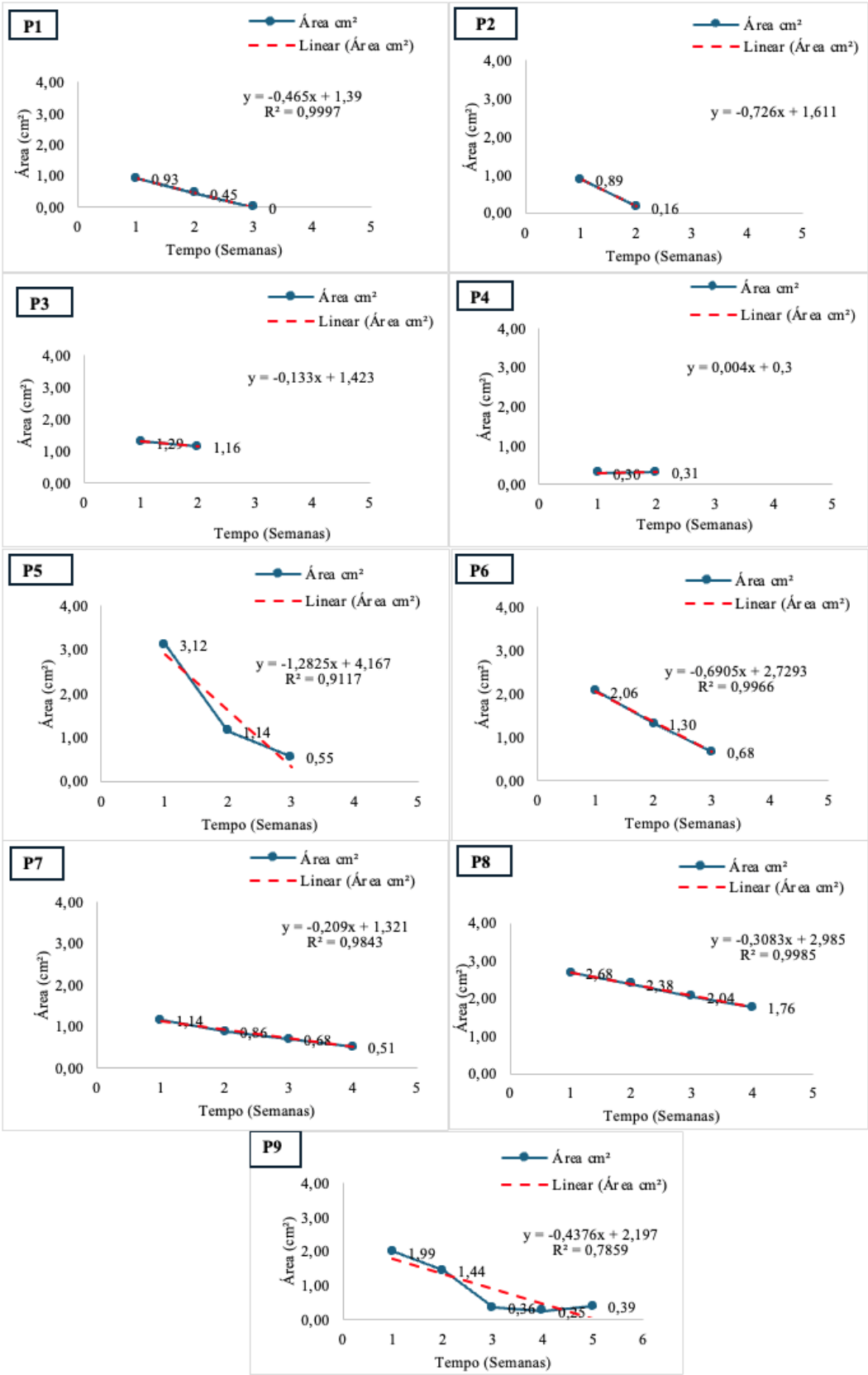

Figura 12. Regressões lineares das lesões cutâneas dos pacientes (P1 a P9) de LTAC submetidos apenas ao tratamento convencional (SUS) do Grupo Controle, correlacionando a área da lesão (cm^2) x tempo (semanas) de tratamento.

Legenda: Pacientes numerados de 1 a 9 (P1 a P9) do grupo 1 do Tratamento Convencional.

Constatou-se com a regressão linear do processo cicatricial deste grupo apresentou-se irregular, pois houveram pacientes (P1, P2, P5 e P6) com o processo de cicatrização de forma rápida em poucas semanas, pacientes (P3, P7, P8) com o processo de cicatrização lenta/moderada, paciente (P9) com cicatrização irregular e paciente (P4) com ferida praticamente estável. Portanto, independente da via de aplicação do medicamento (intralesional ou endovenoso) fornecido pelo SUS, não se obteve um processo de cicatrização com características homogêneas de acordo com a via de aplicação do medicamento, dados que deverão ser comprovados com uma amostragem maior de pacientes em trabalhos futuros. Contudo, a maioria das feridas apresentaram regressões lineares indicando que o tratamento aplicado foi eficaz em promover o processo de cicatrização.

Quanto ao Coeficiente de Correlação (R^2), os pacientes P1, P6, P7 e P8 apresentaram $R^2 > 0,98$, indicando uma boa representatividade dos pontos com a equação matemática. Neste estudo, não se considera o R^2 para pacientes com apenas duas medidas de área da lesão (P2, P3 e P4), uma vez que a relação entre as variáveis é totalmente previsível.

Grupo 2 - Protocolo Terapia Fotodinâmica (TFD)

No Grupo 2, os pacientes (*n*=10) foram submetidos à Terapia Fotodinâmica (TFD) associado ao medicamento do SUS administrado pela via endovenosa nos pacientes 2 a 10 (P2 a P10), e intralesional no paciente (P1). A média de sessões terapêuticas foi de 2 ± 0,42 sessões, realizadas com intervalo de 15 dias entre as aplicações. As áreas das lesões apresentaram em média de 3,2 ± 5,8 cm². Os resultados evidenciaram a redução das lesões no grupo 2, dados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Evolução da regressão das lesões (cm^2) por LTAC e o número de sessões em semanas por paciente do grupo 2 - Terapia Fotodinâmica (TFD).

Pacientes	***Semanas***					
	I	**II**	**III**	**IV**	**V**	**Sessão**
1	2,10	2,48	0,91	0		2
2	1,51	1,44	1,11	0,33	0,200	2
3	0,21	0,12	0,52	0		2
4	0,62	0,41	0,25	0		2
5	13,85	7,20	4,94	0,95	0	2
6	0,13	0,08	0			1
7	8,50	6,17	4,62	1,72	0	2
8	8,00	8,97	7,45	0		2
9	17,00	16,40	12, 50	1,65	0	2
10	2,38	2,01	0			1
Média/ Desvio padrão						1,8 (± 0,42)

De forma geral, a evolução do processo cicatricial revelou que 90% dos pacientes atingiram cicatrização total das lesões. Ao analisar os registros fotográficos com o programa Image J® das áreas tratadas para a LTAC, a maioria dos pacientes alcançou o processo de cicatrização completa ou quase o fechamento da lesão epitelial. Assim, mesmo em feridas maiores a intervenção com a TFD foi eficaz no processo de cicatrização conforme apresentado na Figura 13.

Em relação ao Coeficiente de Correlação (R^2) das lesões dos pacientes que foram submetidos ao tratamento com TFD associado ao medicamento Glucantime®, constatou-se o $R^2 > 0,90$, indicando uma boa representatividade dos pontos com a equação matemática. Pacientes com lesões iniciais maiores apresentaram os coeficientes de regressão mais expressivos, indicando taxas mais rápidas da redução de área, e os pacientes com feridas menores tiveram coeficientes próximos de zero, característico do processo de cicatrização completa em poucas semanas, dados apresentados na Figura 14.

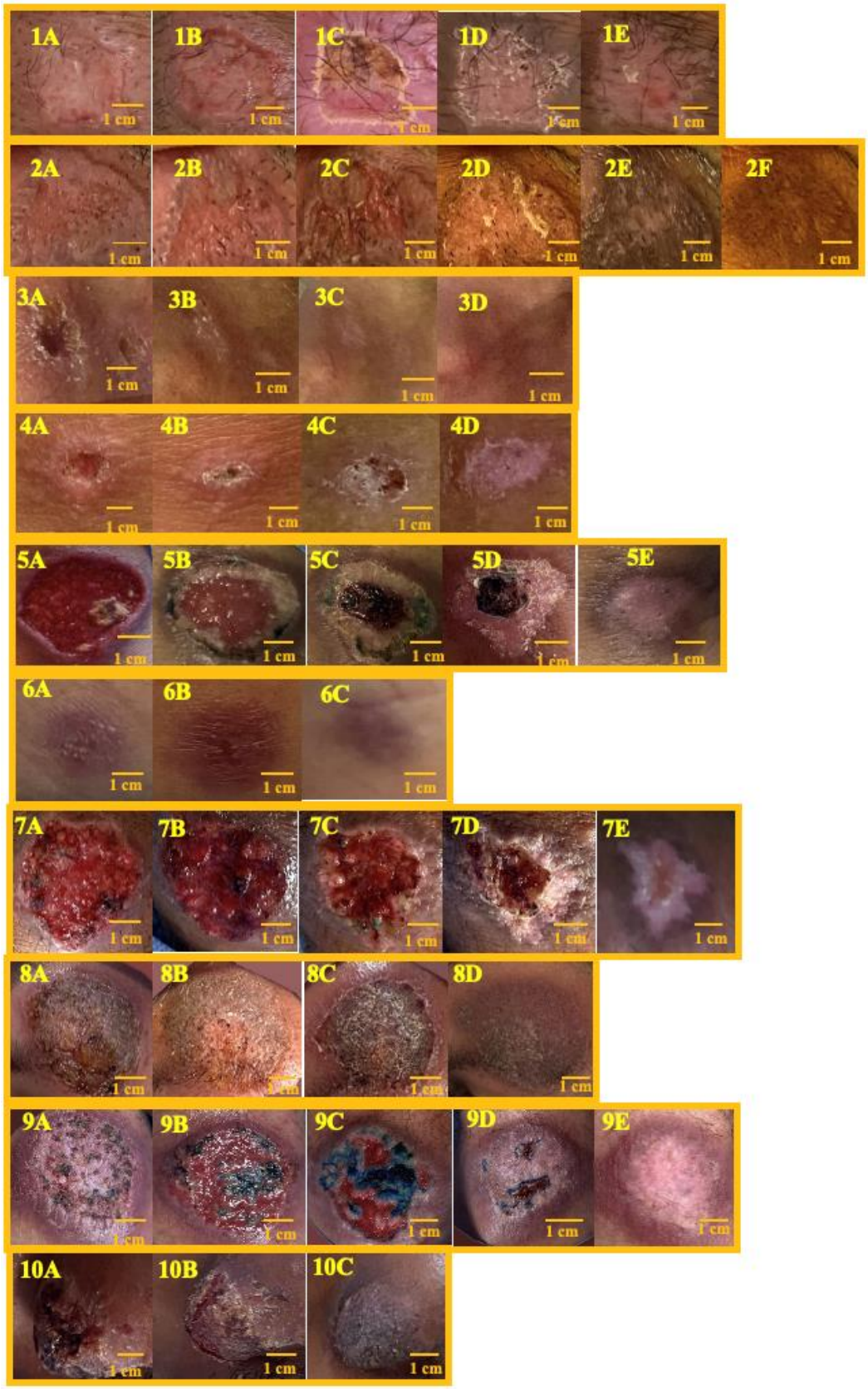

Figura 13. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 10), mostrando a evolução do processo de cicatrização, distribuídos em linhas pelos registros semanais do tratamento TFD associado ao Glucantime® fornecido pelo SUS.

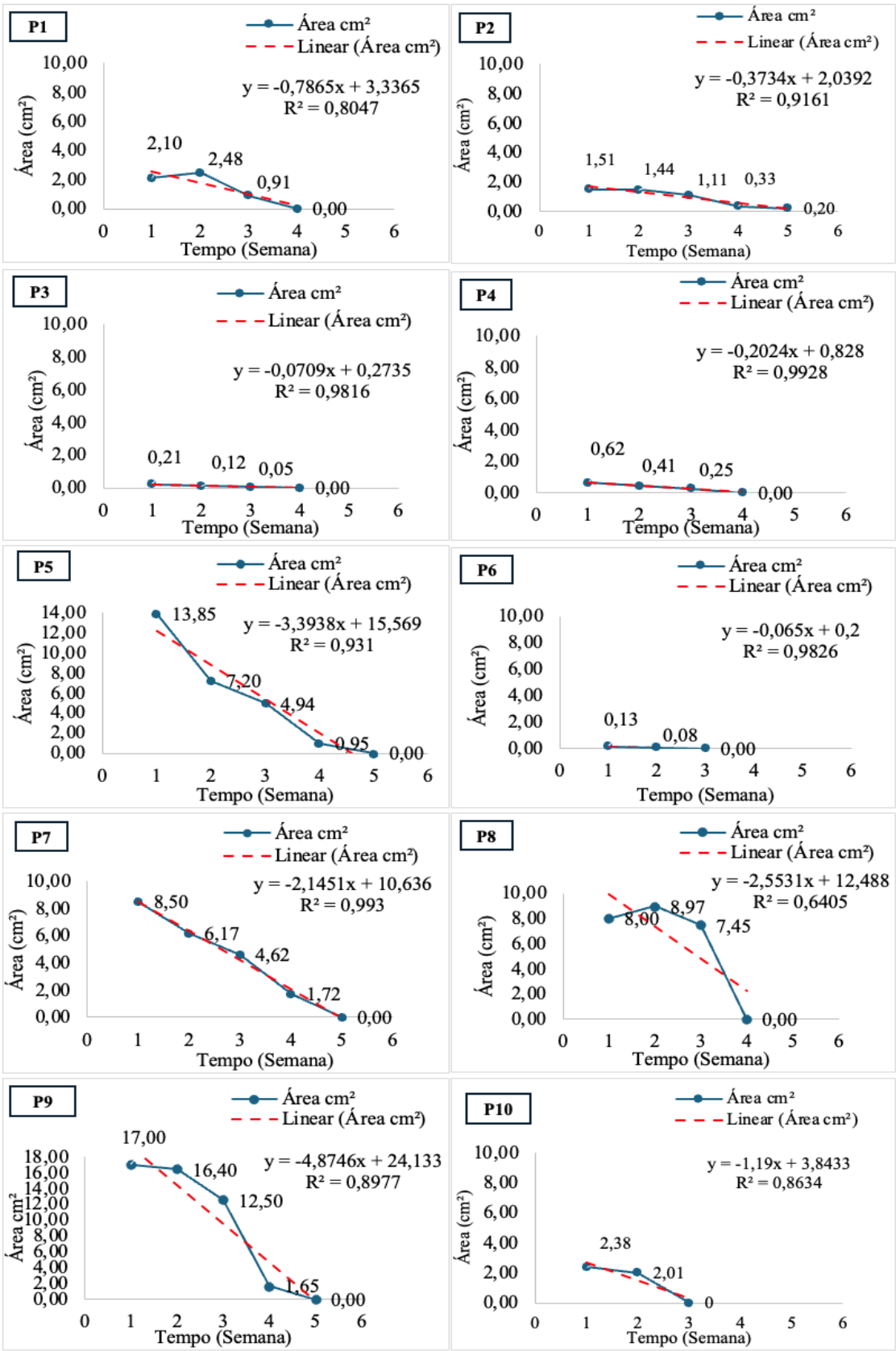

Figura 14. Regressões lineares das lesões de LTAC dos pacientes (P1 a P10) submetidos ao tratamento TFD associado ao tratamento convencional (SUS), correlacionando a área da lesão ($cm^{2)}$ x tempo (semanas) de tratamento.

Legenda: Pacientes numerados de 1 a 10 (P1 a P10) do grupo de tratamento TFD.

No geral, o processo de cicatrização das feridas dos pacientes submetidos a TFD associado ao medicamento disponibilizado pelo SUS, mostrou-se mais eficiente quando comparado ao grupo controle que receberam apenas o tratamento preconizado pelo SUS, utilizando somente o medicamento. Apenas um paciente (P2) não obteve o fechamento completo da lesão após seis semanas de acompanhamento e três aplicações do protocolo, o que pode estar relacionado ao contexto citado anteriormente.

Grupo 3 - Protocolo de ozonioterapia

Neste grupo os pacientes foram submetidos à Ozonioterapia (Grupo 3) associada ao tratamento convencional disponibilizado pelo SUS. Dois pacientes (P1, P4) receberam o medicamento pela via de administração intralesional e todos os outros (P2, P3, P5, P6, P7, P8) receberam pela via endovenosa o medicamento Glucantime®. A média de sessões terapêuticas foi de 4,75 ± 3,49, e as áreas das lesões apresentavam média de 3,24 ± 3,8 cm² (Tabela 7).

Tabela 7. Evolução do processo de cicatrização das lesões (cm^2) por LTAC com o número de sessões em semanas e a dosagem de O_3 aplicada por paciente.

Pacientes	***Semanas***							
	I	**II**	**III**	**IV**	**V**	**Final**	**Sessão**	**Dosagem O_3 (mg/cm^2)***
1	11,48	10,45	8,03	5,10	4,65	1,02	13	9,79
2	0,80	0,38	0,40	0,51	0,26	0,11	5	140,62
3	3,72	2,48	1,78	0		0	3	30,24
4	5,34	4,40	3,73	2,04	2,69	0	5	21,06
5	11,94	10,42	8,14	1,08	0,95	0,95	4	9,42
6	10,87	6,89	6,14	0		0	3	10,35
7	0,69	0,62	0	0		0	2	163,04
8	1,68	1,29	0,87	0		0	3	66,96
Média/Desvio Padrão							4,75 (±3,49)	

Legenda: *Dosagem de ozônio aplicada por paciente, calculada através da fórmula do estudo de Van Leeuwen (2015).

A seguir tem-se os registros fotográficos no programa Image J® das áreas lesionadas pela LTAC comparando a evolução semanal do tratamento pela ozonioterapia administrada pela bolsa plástica, os dados encontram-se na Figura 15.

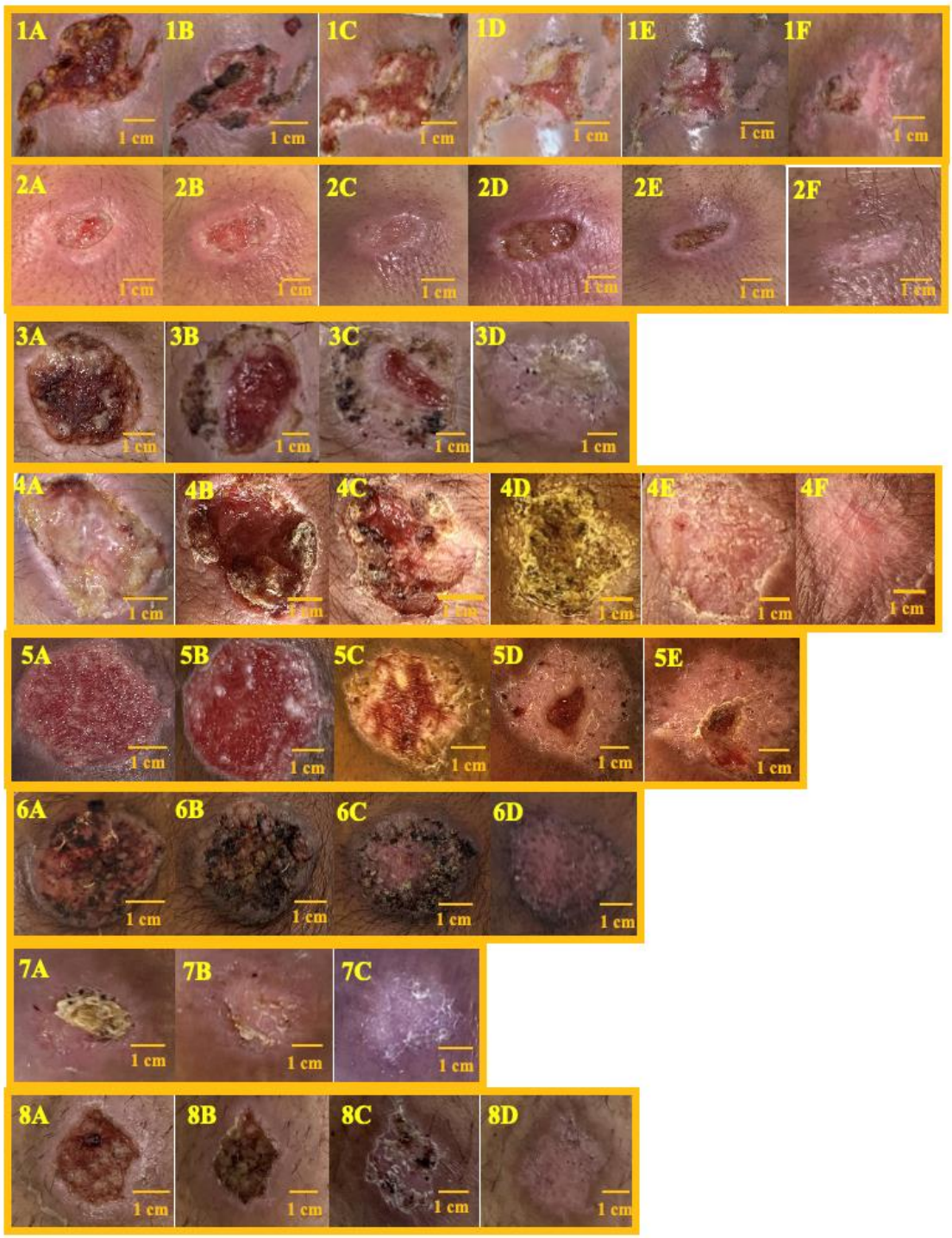

Figura 15. Imagens macroscópicas das lesões de LTAC dos pacientes (1 a 8), mostrando as evoluções do processo de cicatrização, distribuídos em linhas, em tratamento da ozonioterapia e Glucantime® (SUS) durante o processo de cicatrização em semanas de tratamento.

Os resultados da evolução da regressão linear das lesões dos pacientes (P1 a P8) estão representados nos gráficos da Figura 16, sendo aferido a área (cm^2) pelo tempo (semanas) no processo de cicatrização das lesões por LTAC.

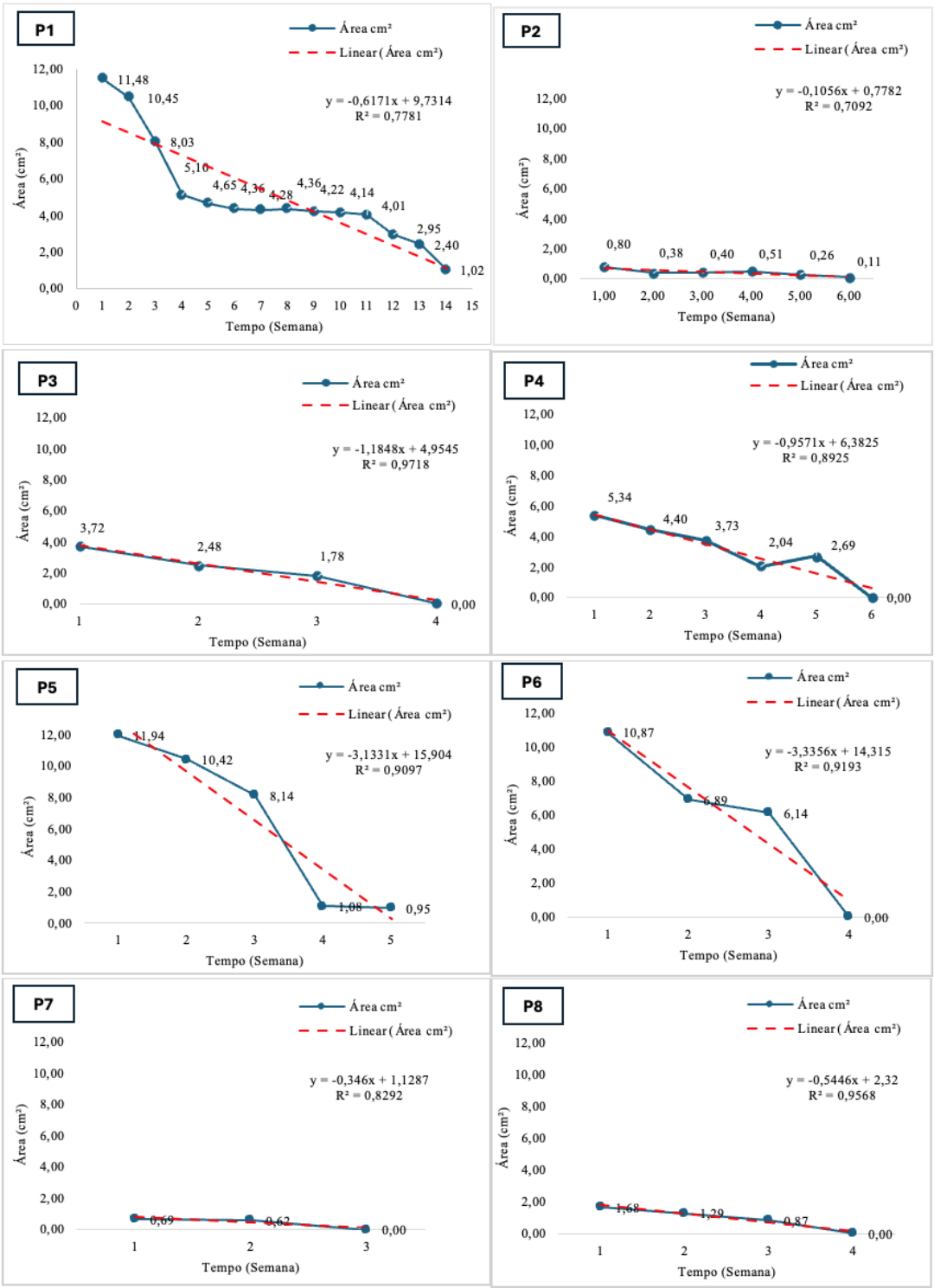

Figura 16. Regressões lineares dos pacientes (P1 a P8) das lesões de LTAC submetidos ao tratamento Ozonioterapia associado ao tratamento convencional (SUS), correlacionando a área da lesão (cm^2) x tempo (semanas) de tratamento.
Legenda: Pacientes numerados de 1 a 8 (P1 a P8) do grupo de tratamento TO_3.

Em relação ao Coeficiente de Correlação na maioria dos pacientes obteve-se $R^2 > 0,7$ mas, $R^2 > 0,9$ foram encontrados em P3, P6, P8, enquanto o R^2 entre 0,7 a 0,89 foram encontrados em P2 e P1. Ressalta-se que o Paciente 1 precisou de um tempo mais longo de tratamento visando alcançar a cicatrização da ferida, o que sugere-se que além da leishmaniose tegumentar americana cutânea, o mesmo apresentava um processo de infeccioso da lesão com dificuldade de vascularização e edemas no membro, condições essas observadas durante o atendimento realizado.

Em todos os tratamentos deste estudo, constatou-se que os protocolos favoreceram o processo de cicatrização das lesões nos pacientes, entretanto os grupos 2 (TFD) e 3 (TO_3) apresentaram maiores médias dos coeficientes de regressões das feridas (TFD = 1,57; 234%; TO_3 = 1,28; 172%) quando comparados ao grupo 1 (Controle) submetido apenas ao tratamento convencional, conforme os dados apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Coeficientes de regressão e taxa de regressão semanal das lesões por LTAC dos pacientes distribuídos nos grupos de tratamentos.

Pacientes	Coeficiente de regressão TC	Taxa de Regressão (%) *	Coeficiente de regressão TFD	Taxa de Regressão (%) *	Coeficiente de regressão TO_3	Taxa de Regressão (%) *
1	0,47	50,54	0,79	37,61	0,62	5,4
2	0,73	82,02	0,37	24,50	0,11	13,75
3	0,13	10,07	0,07	33,33	1,18	31,72
4	0,00	0,00	0,20	32,25	0,96	17,80
5	1,28	41,02	3,39	24,47	3,13	26,21
6	0,69	33,49	0,07	53,84	3,34	30,72
7	0,21	18,42	2,15	25,29	0,35	50,72
8	0,31	11,56	2,55	31,87	0,54	32,14
9	0,44	22,11	4,87	28,64		
10			1,19	50,00		
Média	**0,47**		**1,57**		**1,28**	
Desvio Padrão	**0,39**		**1,63**		**1,25**	

Legenda: TC Tratamento convencional, TFD Terapia fotodinâmica e TO_3 Ozonioterapia. * Taxa de regressão semanal percentual: relação entre o coeficiente angular e a área inicial da ferida, multiplicado por 100, adotando como referência o estudo de Prince e Dodds (2006).

Em relação aos tratamentos neste estudo, constatou-se que não houve diferenças significativas entre os coeficientes dos grupos 1 e 2 (TC e TFD) ($p=0,236 > 0,1$), entre os grupos 1 e 3 (TC e TO_3) ($p=0,113 > 0,1$) e entre os grupos 2 e 3 (TFD e TO_3) ($p=0.965 > 0.1$).

Os coeficientes de regressão das lesões por LTAC quando comparados percentualmente, demonstrou que o grupo 2 (TFD) obteve o processo de cicatrização mais eficiente em 234%, enquanto o grupo 3 (TO_3) foi de 172%, quando comparados ao grupo 1 (TC).

Contudo, o tratamento convencional demonstrou respostas baixas (pouco satisfatória), enquanto a terapia fotodinâmica demonstrou-se melhor resposta quando comparado aos outros grupos, podendo ser implementada também pelo SUS.

5 DISCUSSÃO

Com a caracterização da amostra, constatou-se que a maioria dos pacientes eram do sexo masculino com atividades laborais de garimpo e agricultores, residentes em áreas endêmicas para a Leishmaniose Tegumentar Americana devido à presença expressiva de fauna e flora que favorecem o ciclo silvestre do parasita. Nesse contexto, a Organização Pan-Americana da Saúde (2022) ressalta que as leishmanioses permanecem entre as doenças infecciosas negligenciadas, uma vez que afetam principalmente populações em situação de pobreza e com acesso limitado aos serviços de saúde, como é o caso dos povos da Amazônia.

Em relação a localização anatômica, no corpo humano, das áreas lesionadas, nesta pesquisa houve a predominância de lesões em membros superiores, o que está relacionado à maior exposição dessas áreas da pele do indivíduo com o ar ambiente. Esses achados corroboram com os dados da Organização Pan-Americana da Saúde (2021), que apontam maior acometimento das regiões cutâneas expostas de 70% a 76% com lesões em membros (superiores e inferiores), 20% a 22% em face e pescoço e o restante no tronco, reforçando a influência de fatores ambientais e ocupacionais na distribuição anatômica das lesões, uma vez que trabalhadores em atividades como garimpo, agricultura e exploração madeireira permanecem longos períodos expostos em áreas endêmicas.

Dos medicamentos dispostos pelo SUS para o tratamento da LTA, na sua maioria apresentam efeitos colaterais nos pacientes, hepato e nefrotoxicidade (BRASIL, 2017), sendo relevante novas propostas em pesquisas terapêuticas visando minimizar os sintomas clínicos e promover a cura da doença, destas destacam-se a Terapia Fotodinâmica e Ozonioterapia.

A terapia fotodinâmica (TFD) demonstrou neste estudo ser uma alternativa promissora no manejo terapêutico da Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea. Os resultados encontrados estão em consonância com Ozog (2016), que destaca o potencial dessa técnica em modificar o comportamento celular induzindo a apoptose, podendo ser aplicada como tratamento adjuvante em lesões cutâneas, reafirmados por Moura, Brandão e Barcessat (2018), que demonstraram em seu estudo, que a aplicação de azul de metileno a 0,01%, em 660 nm, com DE de 90 J/cm^2, semanalmente, foi eficaz, tornando-se uma proposta promissora no manejo de lesões cutâneas, e Souza et al. (2017) observaram que a TFD promoveu a resposta imune do hospedeiro frente à leishmaniose cutânea e consideraram o tratamento seguro, sem relatos de efeitos adversos, diferenciando-se dos medicamentos utilizados na atualidade para esta finalidade e administrados pelo SUS.

Em relação a técnica TFD, Aureliano et al. (2018), em estudo utilizando azul de metileno e LED 645 nm, relatam que a terapia fotodinâmica antiparasitária é uma abordagem emergente para o tratamento da leishmaniose cutânea, uma vez que nenhum efeito colateral, contraindicações e desenvolvimento de resistência ao parasita foram relatados, o azul de metileno (AM) utilizado como fotossensibilizador e estimulado pela luz vermelha modificou a permeabilidade da membrana e causou a despolarização do potencial da membrana mitocondrial, ocasionando mudanças em *L. amazonensis*, levando a morte do parasita nos ensaios *in vitro.*

Os achados neste estudo estão em consonância com o estudo de Cabral et al. (2020) ao avaliarem a eficácia da TFD em camundongos infectados por *L. amazonensis* e *in vitro*, utilizando azul de metileno tópico e LED vermelho (660 nm), verificaram redução de 90% da viabilidade parasitária quando aplicou-se DE 48,8 J/cm^2, e melhora significativa em camundongos, em duas sessões de aplicações com DE 150 J/cm^2, concluindo que a técnica foi suficiente para diminuir a inflamação e o tamanho das lesões. Todavia, neste estudo foram observados melhora das lesões utilizando a DE 45 J/cm^2, DE inferior ao estudo Cabral et al. (2020) quando trabalhou com modelo animal.

Essas evidências reforçam o potencial da TFD não apenas como alternativa terapêutica, mas também como recurso adjuvante no tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. No entanto, cabe salientar que a maior parte dos estudos ainda se concentram em modelos experimentais e em amostras clínicas restritas, o que evidencia a necessidade de ensaios clínicos controlados e de maior abrangência para consolidar sua eficácia, segurança e viabilidade de aplicação em larga escala, especialmente no contexto do Sistema Único de Saúde.

Ao avaliar a associação do TFD com o uso concomitante de medicamentos convencionais utilizados para o tratamento de LTA, Asiliano e Davami (2006) ao compararem a eficácia da TFD (Ácido Aminolevulínico - ALA e LED 630 nm, 80 J/cm^2, 15 minutos de exposição) com a paromomicina tópica em 57 pacientes com leishmaniose cutânea causada por *L. major* no Irã, demonstraram que a TFD pode ser utilizada com segurança como alternativa terapêutica rápida e altamente eficaz. Dados também encontrados neste estudo mesmo com uma amostragem menor (conveniência) em relação ao número de pacientes.

Sbeghen et al. (2015) avaliaram a aplicação tópica e intradérmica do azul de metileno (0,5%) associado a LED vermelho (663 nm), realizada 3 vezes por semana, durante 12 meses, em ensaio *in vivo* utilizando hamsters infectados por *L. braziliensis*, com resultados positivos reforçando o potencial como alternativa terapêutica, mas destacaram a necessidade de mais

investigações sobre seu uso isolado ou em combinação com terapias convencionais devido ao período prolongado da terapia para o fechamento da ferida, que difere deste estudo pelo período menor para a cicatrização da lesão.

Peloi et al. (2011) que afirmaram que a TFD, LED (665 nm, 5 $mW.cm^{-2}$), usado por 60 minutos (DE 12 J/cm^2) com azul de metileno, torna-se um tratamento vantajoso por ser de baixo custo. Também Song et al. (2011) demonstraram em seu estudo que o efeito favorável da TFD (Azul de metileno de 100 µM**,** LED 630 nm, DE 75 J/cm^2, 12,5 minutos) no tratamento da Leishmaniose cutânea *in vivo* não se deve apenas ao efeito parasiticida direto, mas também à ativação do sistema imunológico com liberação do fator de necrose tumoral, aumento na expressão de moléculas de adesão e aumento da interleucina. Além disso, o azul de metileno tem sido amplamente utilizado como fotossensibilizador seguro em feridas crônicas com evidências sustentadas por diferentes resultados encontrados em muitas pesquisas (CESAR et al., 2022; PINHEIRO; ALMEIDA; SOARES, 2017).

Gardlo et al. (2003) ao aplicarem o fotossensibilizador para o tratamento de leishmaniose tegumentar com TFD, metilaminolevulinato, LED 630 nm, DE 75 J/cm^2, duas vezes por semana e aos poucos reduzindo a aplicação para uma vez por semana por quatro semanas, os pacientes tratados ficaram clinicamente e histologicamente livres do parasita e sem recorrência da lesão pelo período de 10 meses de acompanhamento após o encerramento do tratamento com o resultado estético satisfatório, podendo ser outra opção de fotossensibilizador, entretanto, apresenta um custo mais elevado que o azul de metileno que foi proposta deste estudo.

O Coeficiente de Regressão da ferida no grupo da TFD obteve os melhores resultados pois além da TFD, de forma complementar à fotobiomodulação ocorreu como efeito secundário da estimulação local tópica em concordância, podendo potencializar os efeitos de cicatrização conforme já relatado nos estudos de Asiliano e Davami (2006) e Sbeghen et al. (2015).

Neste estudo, tanto a Terapia Fotodinâmica (TFD) quanto a ozonioterapia mostraram-se alternativas promissoras no manejo da Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea (LTAC), atuando como estratégias complementares ao tratamento convencional com antimoniato de meglumina (Glucantime®). Ambas as técnicas apresentaram potencial em acelerar o processo de cicatrização e promover melhora clínica das lesões, corroborando com achados de diferentes estudos (OZOG, 2016; MOURA, BRANDÃO, BARCESSAT, 2018; SOUZA et al., 2017; CABRAL et al., 2020; ASILIANO, DAVAMI, 2006; SBEGHEN et al., 2015).

Os resultados desta pesquisa corroboram com os estudos de Elvis e Ekta (2011), reforçando o potencial do ozônio como recurso terapêutico complementar de cicatrização de feridas, mas sua aplicação terapêutica deverá ser realizada com cautela, utilizando dosagens recomendadas e com o monitoramento do paciente.

Os achados neste estudo corroboram com os resultados do trabalho de Salmani, Delavari e Arbabi (2024), os quais demonstraram que a maior taxa de mortalidade do parasita (100%) ocorreu após 30 minutos de exposição a 40 ppm (partes por milhão) de gás ozônio, e que o ácido desoxirribonucleico dos parasitas tratados foi degradado e alterações morfológicas significativas foram observadas no corpo e nos flagelos dos promastigotas, assim, o ozônio exibiu uma atividade anti-Leishmania, induzindo apoptose em *Leishmania major*, sugerindo uma investigação mais aprofundada sobre o ozônio como agente antileishmania.

Também em consonância com os resultados deste estudo, Faraji et al. (2021) ao utilizarem a bolsa plástica (bag) para a ozonioterapia associada ao curativo de prata, obteve resultados satisfatórios em paciente com ferida infectada, utilizando a concentração de ozônio de 70 mg/L por 20 minutos, a cada três dias pelo período de 30 dias, e após cada sessão a ferida era coberta por gazes impregnadas por alginato de prata, acelerando o crescimento do tecido para o preenchimento da área lesionada. Dados também encontrados nos estudos por Mendes et al. (2021), de caráter exploratório descritivo, transversal e retrospectivo, com 20 pacientes acometidos por feridas crônicas submetidos ao tratamento com ozônio.

Também, os resultados corroboram, com o estudo de Pivoto et al. (2024) que ao avaliarem a eficiência do óleo de girassol ozonizado como adjuvante no tratamento de lesões cutâneas causadas por *Leishmania amazonensis* em camundongos, tratados em quatro esquemas diferentes usando o tratamento medicamentoso com o Glucantime®, com ou sem óleo ozonizado, após trinta dias de tratamento, demonstraram que o grupo tratado com óleo ozonizado mais o Glucantime® mostrou o melhor desempenho, melhorando significativamente a lesão, eliminando os parasitas, demonstrando uma ação imunomoduladora do ozônio nos animais tratados com óleo ozonizado em comparação com o grupo não tratado.

Em relação ao tempo de cicatrização notou-se que o tratamento convencional neste estudo, apresentou um processo de cicatrização mais tardio na maioria das lesões, e os grupos TFD e TO_3 tiveram tempos semelhantes (aproximadamente 5 semanas) para a cicatrização, porém a TFD foi mais consistente com um coeficiente de regressão mais expressivo em relação aos outros tratamentos.

O período de cicatrização deste estudo corrobora com os achados de Ullah et al. (2024) que avaliaram a eficácia e a segurança da TFD no manejo da leishmaniose cutânea (LC) em

uma revisão sistemática, composta de 21 estudos com 304 pacientes, com diferentes protocolos de TFD, mostraram efeitos clínicos positivos com o período de fechamento das lesões de quatro semanas a 24 meses, dependendo da área da lesão e periodicidade do tratamento.

Neste estudo observou-se que não houve diferença significativa entre os coeficientes de regressão dos grupos TFD e TO_3 em relação ao tratamento convencional, pois a adoção de um nível de significância de $p>0,1$, baseado em trabalhos de Stephan Harbarth et al. (2003), Koneru et al. (2007), devem ser interpretados como exploratórios indicando a necessidade de estudos com amostragem maior entre grupos. Neste estudo, tratou-se 27 pacientes ao total, amostragem superior do que os trabalhos de Enk et al. (2003) e Moura, Brandão e Barcessat (2018) e que também obtiveram resultados satisfatórios utilizando a TFD. Enk et al. (2003) trataram 11 pacientes aplicando duas sessões de TFD usando o fotossensibilizador ácido δ-aminolevulínico a 20% e 75 J/cm^2, uma vez por semana por quatro semanas resultando em pacientes curados ao término do tratamento, enquanto Moura, Brandão e Barcessat (2018), trataram 16 pacientes.

Ressalta-se que a cicatrização da ferida é um processo que envolve diversos fatores e não depende apenas do tamanho inicial da ferida e do tipo de tratamento aplicado, o tempo médio e a consistência (R^2) são indicadores confiáveis da evolução clínica da ferida. Além do mais, a identificação dos pacientes com cicatrização lenta permite intervenções precoces para corrigir fatores de risco, enquanto pacientes com boa resposta reforçam a eficácia do tratamento aplicado.

O coeficiente de regressão da ferida pode ser útil para estudos futuros experimentais sobre o tratamento de feridas, e reforça a necessidade de abordagens individualizadas que incluam monitoramento da evolução clínica e a identificação precoce de casos com risco de cronificação, proporcionando os ajustes terapêuticos para otimizar o processo de reparo e minimizar o risco de sequelas cicatriciais permanentes, conforme recomendado no estudos sobre feridas crônicas realizado por Prince e Dodds (2006).

Com os resultados obtidos nesta pesquisa, o Ministério da Saúde ou órgãos equivalentes poderão incorporar recomendações terapêuticas inovadoras para as leishmanioses nas Américas, considerando o contexto local, a acessibilidade ao tratamento, a capacidade operacional dos serviços de saúde, riscos e benefícios das intervenções, de acordo com o quadro clínico do paciente (OPAS, 2022), sendo uma proposta viável para ser implementada pelo SUS.

6 CONCLUSÃO

Nesta investigação foram desenvolvidos dois protocolos terapêuticos para a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), utilizando Ozonioterapia e Terapia Fotodinâmica (TFD). Os resultados demonstraram que a TFD, empregando azul de metileno a 1% como fotossensibilizador, em 630 nm e dose de energia de 45 J/cm², apresentou maior eficácia no processo de cicatrização das lesões cutâneas em comparação à Ozonioterapia (7,5 mg/min em bolsas plásticas) e ao tratamento convencional. Em termos de evolução cicatricial, 90% dos pacientes tratados com TFD alcançaram cicatrização total das lesões, seguidos por 80% no grupo da Ozonioterapia, enquanto apenas 10% dos pacientes submetidos ao tratamento convencional obtiveram cicatrização completa. As variações observadas nos coeficientes de regressão entre os grupos sugerem que características individuais e específicas das lesões influenciam de forma significativa a resposta terapêutica.

Este estudo, de caráter preliminar, reforça o potencial da Terapia Fotodinâmica como alternativa promissora para o manejo da LTA. Contudo, recomenda-se a realização de novas pesquisas com amostras ampliadas, a fim de consolidar a evidência científica e avaliar a viabilidade de implementação desses protocolos em Unidades Básicas de Saúde localizadas em áreas endêmicas.

7 REFERÊNCIAS

ABRAÃO, L. S. de O. et al. Perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose tegumentar americana no estado do Pará, Brasil, entre 2008 e 2017**. Revista Pan-Amazônica de Saúde,** Wed, 18 Nov 2020. Doi: http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223202000612.

AGHAEI, M.; AGHAEI, S.; SOKHANVARI, F.; ANSARI, N.; HOSSEINI, S. M.; MOHAGHEGH, M.; HEJAZI, S. H.. The therapeutic effect of ozonated olive oil plus Glucantime on human cutaneous leishmaniasis**. Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, 25-30, 2019. DOI: 10.22038/ijbms.2018.29232.7064.

AKILOV, O. E. et al. The Role of Molecular Charge and Photosensitizer Structure in the Efficacy of Photodynamic Therapy against Leishmania Parasites. **Chemistry & Biology**. Volume 13, Issue 8, August 2006, Pages 839-847. Doi: https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.06.008.

ALCOFORADO, M. L. N. G. Estudo de caso: a utilização de terapias biofísicas frequênciais e da hidrozonioterapia na otimização do tratamento da leishmaniose. **Revista Saúde Quântica**. vol.1, nº 1, 2012.

ALLISON R. R.; SIBATA C. H. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review. **Photodiagnosis Photodyn Ther**. ;7(2):61-75. 2010. Doi:10.1016/j.pdpdt.2010.02.001

ALVES, L. P. Absorção Optica Transiente no Composto Fenotiazinico Azul De Toluidina. Orientador: Prof. Dr. Egberto Munin. Tese (Doutorado) . Universidade Camilo Castelo Branco, São Jose dos Campos, Brasil, 2014. Disponível em < https://livrozilla.com/doc/1184485/visualizar-tese>. Acesso em 21 de agosto de 2025.

AMEEN, M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. **Clinical and Experimental Dermatology**, 35: 699-705, 2010. Doi: 10.1111/j.1365-2230.2010.03851.x. Disponível em < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20831602/>. Acesso em 20 de outubro de 2022.

AURELIANO, D. P., et al. Mechanisms of cell death in Leishmania amazonensis triggered by methylene blue-mediated antiparasitic photodynamic therapy. **Photodiagnostics Photodyn**

Ther. 2018, Set; 23:1-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.05.005.

ASILIAN, A.; DAVAMI, M. Comparação entre a eficácia da terapia fotodinâmica e da paromomicina tópica no tratamento da leishmaniose cutânea do Velho Mundo: um ensaio clínico randomizado controlado por placebo. **Dermatologia Clínica e Experimental**, 31: 634-637, 2006. Disponível em <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2006.02182.x>. Acesso em 14 de dezembro de 2024.

AYRES, M. et al. **Bioestat** - aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-Médicas.2007. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/263608962_BIOESTAT_-_aplicacoes_estatisticas_nas_areas_das_Ciencias_Bio-Medicas/citation/download.>. Acesso em 21 de agosto de 2025.

BARBOSA, A.F.S. Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) Using Phenothiazine Derivatives. **Lasers Surg Med**. 44(10):850-5. 2012. Doi: 10.1002/lsm.22099. Epub 2012 Nov 26. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23184450/>. Acesso em 20 de maio de 2025.

BOCCI, V. A Scientific an medical aspects of ozone therapy.State of the art. **Arch Med Res**. 37:425-35, 2006. Doi: 10.1016/j.arcmed.2005.08.006. Disponível < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16624639/>. Acesso em 20 de outubro de 2022.

BOCCI V. **Ozone:** a new medical drug. 2. ed. Siena: Springer; 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012**. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, Diário Oficial da União, 12 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 180 p. : il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). ISBN 978-85-334-1270-5.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Atlas de leishmaniose tegumentar americana:** diagnósticos clínico e diferencial/Ministério da Saúde. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 136 p.: il. color. 2006. ISBN 85-334-0949-4.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento da co-infecção Leishmania-HIV.** Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2004.

CABRAL F.V. et al. Preclinical Investigation of Methylene Blue-mediated Antimicrobial Photodynamic Therapy on Leishmania Parasites Using Real-Time Bioluminescence. **Photochem Photobiol.;** 96(3):604-610. 2020. Doi: https://doi.org/10.1111/php.13188.

CABRAL, F. V. et al. Photodynamic therapy offers a novel approach to managing miltefosine-resistant cutaneous leishmaniasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 177, August 2024, 116881. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116881.

CESAR, G. B.; WINYK, A. P. W., SANTOS, F. S.; Queiroz E. F.; SOARES, K. C. N.; CAETANO, W.; TOMINAGA, T. T. Treatment of chronic wounds with methylene blue photodynamic therapy: A case report, **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Volume 39, 103016, 2022. ISSN 1572-1000. Doi: https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.103016. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572100022003027>. Acesso em 24 de maio de 2025.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. Leishmanioses: uma apresentação. In: **Leishmanioses do continente americano** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014, pp. 17-26. ISBN 978-85-7541-568-9. Disponível em <https://doi.org/10.7476/9788575415689.0001.> Acesso em 21 de setembro de 2022.

DEMIDOVA T.N., HAMBLIN M.R. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. **Antimicrob Agents Chemother**. 49(6):2329-2335. Doi:10.1128/AAC.49.6.2329-2335.2005.

FARAJI, N. et al. Ozone therapy as an alternative method for the treatment of diabetic foot ulcer: a case report. **J Med Case Reports**. 15(1):234. 2021. Doi:10.1186/s13256-021-02829-y.

DA CRUZ VIEIRA, VP; FIGUEIREDO, M. Leishmaniose visceral canina: breve revisão e relatos de casos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 28, p. 1-12, 2021. Doi: https://doi.org/10.35172/rvz.2021.v28.577. Disponível em < https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/577>. Acesso em 04 de abril de 2025.

DATASUS. Tecnologia da Informação a Serviço do SUS. **Leishmaniose cutânea**. Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/ltama.def>. Acesso em 20 de setembro de 2023.

ELVIS A. M.; EKTA J. S. Ozone therapy: A clinical review. **J Nat Sci Biol Med**;2(1):66-70. 2011. Doi: 10.4103/0976-9668.82319.

ENK, D. C. et al. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis With Photodynamic Therapy. **Arch Dermatol Published Online:** 2003;139;(4):432-434. Doi: 10.1001/archderm.139.4.432**.**

FITZGERALD, F. Photodynamic Therapy (PDT): Principles, Mechanisms and Applications. **Nova Science Publishers**, Inc.; New York, NY, USA: 2017. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/321668310_Photodynamic_therapy_PDT_Principles_mechanisms_and_applications.>. Acesso em 20 de maio de 2025.

FLOYD, R.A., SCHNEIDER, J.E., DITTME, D.P; Methylene blue photoinactivation of RNA viruses, **Antiviral Research**, 61, 141–151, 2004. Doi: 10.1016/j.antiviral.2003.11.004. Disponível em < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15168794/>. Acesso em 20 de maio de 2025.

GABRIELLI, D., BELISLE, E., SEVERINO, D., KOWALTOWSKI, A.J., BAPTISTA, M.S.; Binding, Aggregation and Photochemical Properties of Methylene Blue in Mitochondrial Suspensions, **Photochemistry and Photobiology**, 79 (3), 227–232, 2004. Doi: 10.1562/be-03-27.1. Disponível em < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15115294/>. Acesso em 20 de maio de 2025.

GARDLO, K.; HORSKA, Z.; ENK, C. D.; RAUCH, L.; MEGAHED, M.; RUZICKA, T.; NAJAFRITSCH, C. J. **Am. Acad. Dermatol**., 48, 893. 2003. Doi: 10.1067/mjd.2003.218.

Disponível em < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12789181/>. Acesso em 24 de maio de 2025.

GOOGLE. **Mapa do Brasil**. Google Earth, [versão]. [s.d.]. Disponível em <https://earth.google.com/web/search/.> Acesso em: 01 jan. 2021.

GONÇALVES, J. O. S. et al. Uso da ozonioterapia como auxiliar no tratamento de cão portador de leishmaniose: relato de caso. **Pubvet**. v.14, n.1, a495, p.1-5, Jan., 2020. Doi: 10.31533/pubvet.v14n1a495.1-4.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 7, n. 3, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2004000300011>. Acesso em 24 de janeiro de 2025.

GORIN, D. R. et al. A influência da geometria da ferida na medição das taxas de cicatrização de feridas em ensaios clínicos. **J Vasc Surg;** 23: 524-258. 1996. Doi: 10.1016/s0741-5214(96)80021-8.

GOVERNO DE SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Saúde. **Guia de Orientação**. Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 7 Edição. 2021. Disponível em <https://dive.sc.gov.br/phocadownload/doencasagravos/Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana%20(LTA)/Publica%C3%A7%C3%B5es/Manual-orientaAao-LTA_V02.pdf.> Acesso em 24 de janeiro de 2025.

HANNICKEL, A; SILVA, M. H. P. da; BARROS, H. L. De; ALBUQUERQUE, M. P. de. ImageJ como ferramenta para medida da área de partículas de magnetita em três escalas nanométricas. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**. Rio de Janeiro, RJ, 16 – 26, 2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades e estados Pará**. 2020. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pa/santarem.html>. Acesso em 10 de novembro de 2024.

ISCO3 – International Scientific Committee of Ozone Therapy. **Declaração de Madri sobre ozonioterapia**. 3. ed. Madrid: ISCO3, 2020. Disponível em <http://www.isco3.org. >Acesso em: 2 abr. 2026.

KANDRI R. K. et al. Tratamento eficaz da leishmaniose cutânea com terapia fotodinâmica de azul de metileno: relato de caso. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**.

26(3). 2020. Doi: 10.26717/BJSTR.2020.26.004351.

KIM, A. N. et al. Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through CaMKII-ERK1/2-Nrf2 signaling mediates the anti-inflammatory effect of bisdemethoxycurcumin in LPS-stimulated macrophages. **Free Radical Biology and Medicine**. Vol. 49, Issue 3, 1 August 2010, Pages 323-331. Doi: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.01.

KONERU B. et al. The Ischemic Preconditioning Paradox in Deceased Donor Liver Transplantation—Evidence from a Prospective Randomized Single Blind Clinical Trial. **American Journal of Transplantation,** 7: 2788–2796. 2007. Doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.02009. x.

LEE C. N., HSU R., CHEN H., WONG T.-W. Daylight photodynamic therapy: An update. **Molecules.** 25:5195. 2020. Doi: 10.3390/molecules25215195. Disponível em < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33171665/>. Acesso em 24 de maio de 2025.

LIMA, M. J. A.; FELIX, E. P.; CARDOSO, A. A. Aplicações E Implicações Do Ozônio Na Indústria, Ambiente E Saúde. **Quim. Nova**, Vol. 44, No. 9, 1151-1158, 2021. Disponível em < http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170759>. Acesso em 24 de maio de 2025.

LIMA E.; REIS L. V. Photodynamic Therapy: From the Basics to the Current Progress of *N*-Heterocyclic-Bearing Dyes as Effective Photosensitizers. **Molecules.** 29;28(13):5092. 2023. Doi: 10.3390/molecules28135092. PMID: 37446758; PMCID: PMC10343694.

LIU L., et al. Ozone therapy for skin diseases: Cellular and molecular mechanisms. **Int Wound J.** 2023; 20:2376–2385. Doi: 10.1111/iwj.14060.

MAYOR, H. F., MOURE I. M. D., GARCÍA, V. M. R. Evolución clínica de las pericoronaritis tratadas con OLEOZON® en urgencias estomatológicas. **Rev méd electrón**. 32(2). 2010. Disponível em <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202010/vol6%202010/tema3.htm.>. Acesso em 24 de maio de 2025.

MATTOS, M. S. Universidade Federal de Santa Catarina. Núcleo Telesaúde Santa Catarina. **Manual de abordagem e Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana na Atenção Básica.** 2 ed. Florianopolis: UFSC. 2017. Disponível em

<https://moodle.unasus.gov.br/vitrine29/pluginfile.php/19113/mod_resource/content/1/M%C3%B3dulo%201.pdf>. Acesso em 20 de novembro de 2022.

MARCOLINO, L. M. C et al. Photodynamic therapy of cationic and anionic BSA-curcumin nanoparticles on amastigotes of *Leishmania braziliensis and Leishmania major and Leishmania amazonensis.* **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy,** vol. 46, April 2024, 104001. Doi: https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104001.

MASLENNIKOV, O. V; KONTORSHCHIKOVA, C. N.; GRIBKOVA, I. A. **Ozone therapy in practice.** Health manual**.** Nizhny Novgorod, Rússia, 2008. Disponível em <https://absoluteozone.com/wp-content/uploads/2022/05/Ozone-Therapy-in-Practice.pdf>. Acesso em 25 de maio de 2025.

MENDES, C. et al. Ozonoterapia como coadjuvante na cicatrização de feridas e diminuição da dor. **Millenium - Journal of Education, Technologies, and Health**, (esp9), p 131-138. 2021. Epub 07 de dezembro de 2021. Doi: https://doi.org/10.29352/mill029e.25237.

MOURA, J.P.G.; BRANDÃO, L. B.; BARCESSAT, A. R. P. Estudo da Terapia Fotodinâmica (PDT) no reparo de lesões teciduais: estudo de casos clínicos. **Estação Científica.** 8 (1): 103-110, 2018. Doi: 10.18468/estcien.2018v8n1.p103-110.

NAIM, M. et al. Photodynamic Therapy Using Toluidine Blue O (TBO) Dye as a Photosensitizer against *Leishmania major.* **Iran J Public Health**. 2021, 50(10):2111-2120. Doi: 10.18502/ijph.v50i10.7514.

NONELL, S.; FLORS, C. Singlet oxygen: Applications in biosciences and nanosciences. Comprehensive. Series In Photochemistry And Photobiology, v. 13, 2016. ISBN 1782626972.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Atlas interativo de leishmaniose nas Américas: aspectos clínicos e diagnósticos diferenciais.** Washington, D.C.: Organização Pan-Americana da Saúde; 2021. Doi: https://doi.org/10.37774/9789275721902. Disponível em < https://iris.paho.org/handle/10665.2/54129>. Acesso em 20 de novembro de 2024.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Diretrizes para o tratamento das leishmanioses na Região das Américas. Segunda edição. Washington, DC: OPAS; 2022. Disponível em <https://doi. org/10.37774/9789275725030.>. Acesso em 20 de novembro de

2024.

OZOG, D. M.; RKEIN, A. M. ;FABI, S. G.; GOLD, M. H.; GOLDMAN. M. P.; LOWE, N. J. et al. **Photodynamic therapy:** a clinical consensus guide. Dermatologic Surgery. 42(7):804-814, 2016. Doi: 10.1097/DSS.0000000000000800.

PASEK, J. et al. Effect of Treatment of Neuropathic and Ischemic Diabetic Foot Ulcers with the Use of Local Ozone Therapy Procedures-An Observational Single Center Study. **Clin Pract.** 2024,16;14(5):2139-2150. Doi: 10.3390/clinpract14050169.

PELOI L. S. et al. Photodynamic therapy for American cutaneous leishmaniasis: the efficacy of methylene blue in hamsters experimentally infected with Leishmania (Leishmania) amazonensis. **Exp Parasitol.** 2011;128(4):353-356. Doi: 10.1016/j.exppara.2011.04.009.

PERUSSI, J.R., Photodynamic inactivation of microorganisms. **Quím. Nova,** 30, 988-994, 2007. Disponível em <https://www.scielo.br/j/qn/a/558zVdtQmDWrMmT4kkVp5ps/?format=pdf&lang=pt..> Acesso em 10 de setembro de 2025.

PINHEIRO, A. L. B.; ALMEIDA, P.F.; SOARES, L.G.P. Princípios fundamentais dos lasers e suas aplicações, p. 815 -894. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria** - Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2017. Doi: 10.5151/9788521211150-23.

PINTO, J. G. et al. *In vitro* evaluation of photodynamic therapy using curcumin on Leishmania major and Leishmania braziliensis**. Lasers in Medical Science**, v. 31, n. 5, p. 883-890, 2016, Tradução. Doi: https://doi.org/10.1007/s10103-016-1928-5.

PINTO, J.G. et al. Evaluation of methylene blue as a photosensitizer in Leishmania major and Leishmania braziliensis promastigotes Photographic diagnosis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**. Vol. 18, June 2017, Pages 325-330. Doi https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.04.009.

PIVOTTO, A.P., et al. Topical application of ozonated sunflower oil accelerates the healing of lesions of cutaneous leishmaniasis in mice under meglumine antimoniate treatment. Med Microbiol Immunol. 2024 Mar 27;213(1):4. doi: 10.1007/s00430-024-00788-x. PMID: 38532203.

PRINCE, M. R. C. S., DODDS, F. R. C. S. Use of ulcer size and initial responses to treatment to predict the healing time of leg ulcers. **Journal Of Wound Care.** V. 1 5 , N. 7, 2006. Doi: 10.12968/jowc.2006.15.7.26936

RAJABI, O. et al. The Activity of ozonated olive oil against *Leishmania major* promastigotes. **Iran J BasicMedSci.,**v.18, p.915-919, 2015. Doi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26523224/.

RIBEIRO, J. B. P et al. Study of the efficacy of N-methyl glucamine antimoniate (SbV) associated with photodynamic therapy using liposomal chloroaluminium phthalocyanine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania (L.) amazonensis in C57BL6 mice. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Vol. 26, 2019, Pages 261-269. Doi: https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.04.004.

SALMANI, A.; DELAVARI, M.;ARBABI, M. *In vitro* antileishmanial activity of ozone against *Leishmania major*. **International Archives of Health Sciences**. 2024; 11(3): 173-177. Doi: https://doi.org/10.48307/iahsj.2023.417355.1063

SBEGHEN M.R.; VOLTARELLI, E.M.; CAMPOIS, T. G.; et al. Topical and intradermal efficacy of photodynamic therapy with methylene blue and light-emitting diode in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania braziliensis. **J Lasers Med Sci**. 6(3):106-111. 2016. Doi: 10.15171/jlms.2015.03.

SIMÕES J.C.S.; SARPAKI S.; PAPADIMITROULAS P.; THERRIEN B.; LOUDOS G. Conjugated photosensitizers for imaging and PDT in cancer research. **J. Med. Chem**. 63:14119–14150. 2020. Doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00047.

SCWARTZ, A.; SANCHEZ, G. M. Ozone therapy and its Scientific Foundations. **Revista Española de Ozonoterapia**, v. 2, n. 1, p. 199-232. 2012.

SONG, D. et al. Photodynamic therapy using methylene blue to treat cutaneous leishmaniasis. **Photomed Laser Surg**. 29(10):711-715. 2011. Doi: 10.1089/pho.2010.2915.

SPERANDIO, F. F. et al. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 5, p. 581–587, 2010. Doi: 10.1089/pho.2009.2601.

SOUZA, D. M. et al. 5-ALA-mediated photodynamic therapy reduces the parasite load in mice infected with Leishmania braziliensis. **Parasite immunology**, v. 39, n. 3, 2017. Doi: 10.1111/pim.12403.

STEPHAN HARBARTH, et al. Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy and Its Effect on Survival in a Clinical Trial of Immunomodulating Therapy for Severe Sepsis. **The American Journal Of Medicine**. V. 115. p. 530-535. 2003. Doi:10.1016/j.amjmed.2003.07.005.

TAGHIZADEH, E.; KHAMESIPOUR, A.; BASIRPOUR, B.; E HOSSEINI, S. A. Evaluation of the *in vitro* Antileishmanial Activity of Chitosan-Coated Nanoemulsions of Ozonated Olive Oil. **Ozone: Science & Engineering, *46***(4), 355–364. 2024. Doi: https://doi.org/10.1080/01919512.2024.2307030.

TANURE, A. et al. Diversity of phlebotomine sand flies and molecular detection of trypanosomatids in Brumadinho, Minas Gerais, Brazil. **PloS one**, v. 15, n. 6, 2020. Doi: 10.1371/journal.pone.0234445.

ULLAH, N. et al. Photodynamic therapy in management of cutaneous leishmaniasis: A systematic review. **Lasers Med *Sci.*** 39, 226, 2024. Doi: https://doi.org/10.1007/s10103-024-04174-0

VALACCHI, G.; BOCCI V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. **Inflammar Mediat**. 1999; 8(4-5): 205-209. Doi: 10.1080/09629359990360.

VAN LEEUWEN, J. Proposed OS&E Requirement: Measuring Ozone Dosage. **Ozone: Science & Engineering**, v. 37, n. 2, p. 191-192, 2015. Doi: https://doi.org/10.1080/01919512.2015.1006467.

VASCONCELOS JÚNIOR, F. C. F.; et al. **Condutas clínicas em atenção primária à saúde**. Campina Grande: Editora Amplla, 2021. 706 p. ISBN: 978-65-88332-84-9. Doi: 10.51859/amplla.cca849.1121-0.

VOLPE, R. A. F. N. et al. Photodynamic Therapy for the Treatment of American Tegumentary Leishmaniasis: Evaluation of Therapies Association in Experimentally Infected Mice

With *Leishmania (Leishmania) amazonensis.* **J Lasers Med Sci**. 2018, Set 17;9(4):274–282. Doi: 10.15171/jlms.2018.49.

YAO, Q. et al.The concept and examples of type-III photosensitizers for cancer photodynamic therapy. **Chem**, 8, 197–209. 2022. Doi: https://doi.org/10.1016/j.chempr.2021.10.006

WAINWRIGHT, M.; The development of phenothiazinium photosensitisers. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, 2, 263-272, 2005. Doi: https://doi.org/10.1016/S1572-1000(05)00110-9

WAINWRIGHT, M.; CROSSLEY, K. B. Methylene Blue--a therapeutic dye for all seasons?. **J Chemother.** 2002;14(5):431-443. Doi:10.1179/joc.14.5.431. 2002.

WAYNE, R. P.; **Chemistry of atmospheres**, 3rd ed., Oxford: New York, 2000.

ZHU T. C. et al. AAPM Task Group Report 274: Fluence rate dosimetry for photodynamic therapy (PDT). Med Phys. 2025 Mar;52(3):1354-1371. Doi: 10.1002/mp.17613.

APÊNDICE(S)

APÊNDICE I – DECLARAÇÃO PESQUISADOR

São José dos Campos, 31 de agosto de 2022.

DECLARAÇÃO

Eu, Lívia Helena Moreira da Silva Mélo (CPF 185.704.428-23), docente e pesquisadora do curso de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi (UAM) e Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ), ambas localizadas no Parque Tecnológico de São José dos Campos/SP, venho através desta informar que a discente de Doutorado em Engenharia Biomédica - FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS – é minha orientada e pesquisadora responsável pelo trabalho intitulado "**APLICAÇÃO DE NOVOS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS EM FERIDAS DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA CUTÂNEA.**", que será aplicado no município de Santarém/PA em cooperação com os órgãos competentes da área da saúde.

Sem mais para o momento e a disposição em casos de dúvidas.

Lívia Mélo

Profa. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Mélo
Coordenadora do Grupo de Estudos e Pesquisas

ASSOCIAÇÃO CENTRO DE INOVAÇÃO, TECNOLOGIA E EDUCAÇÃO
Estrada Dr. Altino Bondensan, 500, Centro Empresarial III - Sala 901,
CEP 12247-016, São José dos Campos, SP – cite@cite.org.br
www.cite.org.br

APÊNDICE II – DECLARAÇÃO PESQUISADOR

São José dos Campos, 23 de setembro de 2022.

DECLARAÇÃO

Eu, FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS (CPF 748.440.322-91), doutoranda do curso de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi (UAM) e Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ), ambas localizadas no Parque Tecnológico de São José dos Campos/SP, venho através desta informar que sou orientada de Doutorado em Engenharia Biomédica da docente- Lívia Helena Moreira da Silva Mélo, que tem como trabalho intitulado "APLICAÇÃO DE NOVOS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS EM FERIDAS DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA CUTÂNEA.", que será aplicado no município de Santarém/PA em cooperação com os órgãos competentes da área da saúde.

Sem mais para o momento e a disposição em casos de dúvidas.

FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS:74844032291

Assinado de forma digital por FRANCIANE AGUIAR SANTANA MATOS:74844032291
Dados: 2022.09.23 11:50:39 -03'00'

Franciane Aguiar Santana Matos
Doutoranda em Bioengenharia Médica

ASSOCIAÇÃO CENTRO DE INOVAÇÃO, TECNOLOGIA E EDUCAÇÃO
Estrada Dr. Altino Bondensan, 500, Centro Empresarial III - Sala 901,
CEP 12247-016, São José dos Campos, SP – cite@cite.org.b

APÊNDICE III – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO			
1. IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA			
Título do Projeto: **Aplicação de protocolos terapêuticos em feridas de leishmaniose tegumentar americana cutânea.**			
Área do Conhecimento: Bioengenharia Médica	Número de participantes:40	No centro: 40	Total: 40
Curso: Doutorado	Unidade: UAM		
Instituição onde será realizado**:** Divisão de Vigilância em Saúde – DIVISA/Santarém-PA			
Nome dos pesquisadores e colaboradores: Franciane Aguiar Santana e Profa. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Mélo.			
O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) para participar do projeto de pesquisa acima identificado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que será realizada. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir, a qualquer momento, isso não lhe causará nenhum prejuízo.			
2. IDENTIFICAÇÃO DOS PESQUISADORES			
Nome do pesquisador responsável: Franciane Aguiar Santana Matos	**Telefone:** (93) 992404263	**CPF:**74844032291	
Profissão: Enfermeira	**Registro no Conselho Nº: 284005**	**E-mail:** enfengfranciane@gmail.com	
Endereço: Rua Areia Branca, 1230, Bairro Nova União, Alter do Chão, Santarém-PA			
Nome: Lívia Helena Moreira da Silva Mélo		**Telefone**: (12) 99189-0240	
Profissão: Médica Veterinária	**Registro no Conselho Nº:** 11209/SP	**E-mail:** livia.mel@animaeducacao.com.br	
Endereço: Parque Tecnológico de São José dos Campos, Estrada Dr. Altino Bondensan, 500, Eugênio de Melo, São José dos Campos/SP, CEP 12247-016			

O estudo tem como objetivo geral: Desenvolver protocolos utilizando a fotobiomodulação e ozonioterapia no tratamento de feridas de Leishmaniose Tegumentar Cutânea em humanos visando a melhora na cicatrização da ferida; e os objetivos específicos: Avaliar os efeitos da Terapia Fotodinâmica utilizando o fotossensível azul de metileno a 1% e LED na faixa do vermelho (λ= 630 nm) visando a caracterização morfologia macroscópica das lesões cutâneas de LTA; Avaliar os efeitos da Ozonioterapia visando a caracterização morfologia macroscópica das lesões cutâneas de LTA; Comparar os efeitos das duas técnicas terapêuticas nas lesões cutâneas de LTA; Desenvolver os protocolos terapêuticos para as lesões cutâneas de LTA., e caracterizar as lesões de LTA através do registros fotográficos semanalmente caracterizando através do Software Image J ® como uma opção quantitativa de avaliação para a redução das feridas.

1. Sua participação neste projeto não acarretará qualquer ônus pecuniário com relação aos procedimentos avaliativos efetuados com o estudo, sendo apenas utilizado escalas de pesquisa referentes aos temas a serem estudados.
2. O Senhor (a), enquanto voluntário (a) desta pesquisa, tem liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
3. A desistência não causará nenhum prejuízo à saúde ou bem-estar físico. Não virá interferir em suas atividades nesta instituição;
4. Os resultados obtidos neste estudo serão mantidos em sigilo, mas caso concorde que sejam divulgados em publicações científicas, os dados pessoais sobre o (a) Senhor (a) não serão mencionados;

_____ Rubrica do Participante da pesquisa

_____ Rubrica do Pesquisador

5. Riscos: Os riscos ao Senhor (a) (participante) será de um possível constrangimento ao expor uma parte do corpo ao pesquisador, sendo que este risco será minimizado uma vez que o procedimento será realizado em um espaço restrito, apenas ao Senhor (a) (participante) e aos pesquisadores. Também a ocorrência de frustações pode acontecer devido à demora no processo de cicatrização. Para minimiza esses riscos, o Senhor (a) (participante) poderá ser encaminhado ao psicólogo da clínica escola da instituição (Fundação Esperança) local onde a pesquisadora é alocada para trabalhar.

6. As imagens obtidas das lesões serão utilizadas neste estudo sem qualquer forma de identificação do Senhor (a) (participante). Será utilizado um Iphone modelo IOS 6 para registros das imagens das lesões de leishmaniose cutânea com o aplicativo ImageJ®, para a mensuração da área das feridas. Caso o (a) Senhor (a) não aceitem registrar as imagens das lesões poderá informar no momento da coleta de dados desta pesquisa.

7. Benefícios: Como benefício o (a) Senhor (a) receberá um tratamento alternativo nas lesões da leishmaniose cutânea com intuito de reduzir o tempo de cicatrização das lesões e assim impactando positivamente na autoestima e na qualidade de vida do Sr (a). Ressalta-se que o (a) Sr (a) continuará recebendo o tratamento medicamentoso preconizado pelo ministério da saúde, aliado a prática de curativos como tratamento complementar.

8. O (A) Senhor (a) estão sendo convidados a participar do estudo, através da autorização da coleta do seu atendimento durante o atendimento na Divisão de vigilância de saúde local da pesquisa, sendo devidamente esclarecidos quanto aos seus objetivos, riscos e benefícios e, a seguir, assinarão o TCLE elaborado em duas vias, sendo assim, o (a) Senhor (a) (participante) receberá uma via do TCLE e no qual todas as folhas do mesmo serão rubricadas e assinadas ao final. Além dos cuidados com o TCLE, medidas de precaução em relação a ocorrência de constrangimento ou danos serão tomadas (realização do curativo em locais reservados, armazenamento dos dados em pastas codificadas).

9. Conforme o IV.8 - Nos casos em que seja inviável a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou que esta obtenção signifique riscos substanciais à privacidade e confidencialidade dos dados do participante ou aos vínculos de confiança entre pesquisador e pesquisado, a dispensa do TCLE deve ser justificadamente solicitada pelo pesquisador responsável ao Sistema CEP/CONEP, para apreciação, sem prejuízo do posterior processo de esclarecimento.

10. A identidade do (a) Senhor (a) nesta pesquisa não será divulgada, sendo mantida em sigilo;

11. Caso seja do interesse e desejo, o Senhor (a) (participante) poderá pessoalmente ter acesso aos resultados do trabalho, ao final desta pesquisa entrando em contato com a pesquisadora no endereço: Rua Areia Branca, n 1230, bairro Nova União, Alter do Chão, Santarém-PA, fone:93991337574, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa no endereço: Rua Dr. Almeida Lima, 1.134 - 2o andar - sala 207, Bairro Mooca, São Paulo - SP, CEP: 03.164-000; fone (11)2790-4658.

12. O (A) Senhor (a) assina o presente documento em duas vias de igual teor e forma, ficando uma sobre a sua posse.

Diante do exposto acima, o senhor (a) está sendo convidado (a) a participar na condição de pesquisado desta pesquisa. O senhor (a) aceita o convite para participar desta pesquisa?

Santarém (PA), _____ de _____ de _____

_____	_____
Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar. Participante da Pesquisa e/ou responsável	Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido. Pesquisador Responsável pela Pesquisa

APÊNDICE IV – TCUD

Universidade Anhembi Morumbi 50

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA USO DOS DADOS – TCUD

1. **Identificação da pesquisa:**

Título do Projeto: Aplicação de protocolos terapêuticos em feridas de leishmaniose tegumentar americana cutânea

Curso: Doutorado em Bioengenharia Médica

Instituição Proponente: Universidade Anhembi Morumbi

2. **Identificação dos pesquisadores:**

Nome completo (sem abreviação)	Responsabilidade no projeto	CPF
Lívia Helena Moreira da Silva Mélo	Pesquisador Orientadora	185704428-23
Franciane Aguiar Santana	Pesquisadora responsável/doutoranda	748440322-91

3. **Declaração de Compromisso:**

Prezado (a) Senhor (a):

As pesquisadoras desta pesquisa pela Universidade Anhembi Morumbi, do curso de pós graduação em doutorado de Engenharia Biomédica citados acima, pretendem realizar um estudo cujo objetivo geral será: Desenvolver protocolos utilizando a fotobiomodulação e ozonioterapia no tratamento de feridas de Leishmaniose Tegumentar Cutânea em humanos visando a melhora na cicatrização da ferida; e objetivos específicos: Avaliar os efeitos da Terapia Fotodinâmica utilizando o fotossensível azul de metileno a 1% e LED na faixa do vermelho (λ= 630 nm) visando a caracterização morfologia macroscópica das lesões cutâneas de LTA; Avaliar os efeitos da Ozonioterapia visando a caracterização morfologia macroscópica das lesões cutâneas de LTA; Comparar os efeitos das duas técnicas terapêuticas nas lesões cutâneas de LTA; Desenvolver os protocolos terapêuticos para as lesões cutâneas de LTA, e caracterizar as lesões de LTA através do registros fotográficos semanalmente caracterizando através do Software Image J ® como uma opção quantitativa de avaliação para a redução das feridas. Por meio deste documento, solicitamos sua autorização para utilizar os dados dos prontuários dos pacientes e das fichas de notificação da DIVISA/Santarém-PA, destinadas ao desenvolvimento da Tese da pós graduanda supracitadas e posterior publicação em veículos científicos da área.

1) Baseados nos itens III.2i, 111.2m e III.2q das Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos, a **Resolução CNS 466 de 12 de dezembro de 2012,** e nos principais documentos nacionais e internacionais sobre pesquisas que envolvem seres humanos e que fundamentaram essa Resolução, declaramos que Asseguraremos o compromisso com a privacidade e a confidencialidade dos dados utilizados, preservando integralmente o anonimato e a imagem do participante, tendo o cuidado de não estigmatiza-lo, substituindo, por exemplo, o nome por códigos (ex.1,2,3…). Esse processo de anonimização será realizado pela pesquisadora responsável por esta pesquisa.
2) Assegurarem os a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou de

aspectos econômico-financeiros;

3) Conforme o IV.8 - Nos casos em que seja inviável a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou que esta obtenção signifique riscos substanciais à privacidade e confidencialidade dos dados do participante ou aos vínculos de confiança entre pesquisador e pesquisado, a dispensa do TCLE deve ser justificadamente solicitada pelo pesquisador responsável ao Sistema CEP/CONEP, para apreciação, sem prejuízo do posterior processo de esclarecimento. Em vista, deste inciso, a respectiva pesquisa visa obtenção dos dados pelos arquivos dos prontuários dos pacientes atendidos pela DIVISA/Santarém-PA.

4) O pesquisador responsável estabelece salvaguardas seguras para a confidencialidade dos dados de pesquisa (através da codificação da pasta em que serão armazenados os dados, sendo que apenas os pesquisadores em questão terão acesso as informações desta pasta).

5) Serão coletados nos pronturário dados referentes a anamnese, diagnósticos e tratamento convencional dos pacientes (participantes) desta pesquisa.

6) Havendo contato com as pessoas envolvidas, estas serão informadas dos limites da habilidade do pesquisador em salvaguardar a confidencialidade e das possíveis consequências da quebra de confidencialidade, caso seja necessário.

7) Os dados obtidos na pesquisa serão usados exclusivamente para a finalidade prevista no protocolo do projeto vinculado. Todo e qualquer outro uso que venha a ser planejado, será objeto de novo projeto de pesquisa, que será submetido à apreciação do CEP/CONEP;

8) Asseguramos que os dados coletados serão mantidos em local seguro por 5 anos, sob a responsabilidade dos pesquisadores, após o que serão destruídos.

9) Os resultados deste trabalho poderão ser divulgados em encontros ou revistas científicas, entretanto, serão apresentados em conjunto, sem nomes, instituição à qual pertencem ou qualquer informação que identifique os participantes e a instituição. Para dúvidas de aspecto ético, pode ser contactado o Comitê de Ética em Pesquisa no endereço: Rua Dr. Almeida Lima, 1.134 - 2o andar - sala 207, Bairro Mooca, São Paulo - SP, CEP: 03.164-000; fone (11)2790-4658.

Todos os pesquisadores assinaram este Termo de Consentimento para Uso de Dados dos Profissionais, para a salvaguarda dos direitos dos participantes, juntamente com o responsável da instituição participante.

Santarém Pará, 23 de dezembro de 2022

Nome complete/CPF

Lívia Mélo	185.704.428-23
Francisca Aguiar Santana.	748.440.322-91

APÊNDICE V – DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA/CARTA DE ACEITE

PREFEITURA MUNICIPAL DE SANTARÉM
SECRETARIA MUNICIPAL
DE SAÚDE

AV. MENDONÇA FURTADO, 2440 - CEP 68040-050 – BAIRRO: ALDEIA Santarém/PA. FONE: 2101-6100

CARTA DE ACEITE

Em nome da Secretaria Municipal de Saúde declaro ter conhecimento do projeto de pesquisa intitulado **"APLICAÇÃO DE PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS EM FERIDAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA CUTÂNEA"** autoria da Doutoranda **Franciane Aguiar Santana Matos,** sob a orientação do Docente e pesquisadora **Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Melo,** dando-lhe consentimento para realizar o trabalho nesta instituição e coletar dados em nossos serviços: Divisão de Vigilância em Saúde - DIVISA, *após a aprovação do projeto em questão pelo Comitê de Ética em Pesquisa*, o qual é pré-requisito para o início da pesquisa.

Necessário, porém, se faz que antes da publicação dos resultados o trabalho seja apresentado a esta Secretaria Municipal de Saúde com o escopo de analisar e discutir os resultados obtidos, sendo obrigatório citar na publicação o nome da Universidade Anhembi Morumbi - UAM e da Secretaria Municipal de Saúde, como locais de realização da pesquisa.

Santarém, 08 de Novembro de 2022.

Maria do Desterro Literal Rego
Chefe do Núcleo de Referência Técnica em Saúde
Decreto 164/2022 – GAF/PMS

APÊNDICE VI – Parecer CEP/Aprovação

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: APLICAÇÃO DE PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS EM FERIDAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA CUTÂNEA

Pesquisador: Franciane Aguiar Santana Matos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 65198122.7.0000.5492

Instituição Proponente: ISCP - SOCIEDADE EDUCACIONAL LTDA.

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.901.332

Apresentação do Projeto:

Apresentação do Projeto:

Projeto de Doutorado com a temática da Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea (LTAC), uma doença de grande relevância para a saúde pública e em diferentes partes do mundo.

Este estudo tem o objetivo de desenvolver protocolos utilizando a Terapia fotodinâmica e a ozonioterapia no tratamento de feridas de Leishmaniose Tegumentar Cutânea em humanos visando a melhora na cicatrização das lesões.

A coleta dos dados será realizada em pacientes em tratamento de leishmaniose tegumentar cutânea notificados na Divisão de Vigilância em Saúde em Santarém, no Oeste do Pará.

Será realizado um estudo clínico controlado, experimental, longitudinal e randomizado com amostra de conveniência. Os participantes serão divididos em 4 grupos de tratamento de forma aleatória:

GRUPO 1 (Controle) - Participantes que receberão apenas tratamento medicamentoso convencional do LCA e curativo preconizado pelo órgão oficial.

GRUPO 2 (Terapia Fotodinâmica) -Participantes com lesões somente nos membros superiores e inferiores receberão aplicação de ozônio.

Endereço: Rua Dr. Almeida Lima, 1.134 - 2º andar - sala 207
Bairro: Mooca **CEP:** 03.164-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2790-4658 **E-mail:** cep.uam@animaeducacao.com.br

GRUPO 3 (Ozonioterapia) - Participantes com lesões na face e membros que receberão a aplicação do gás ozônio e a terapia fotodinâmica
GRUPO 4 (HIBRIDO - Terapia Fotodinâmica e Ozônio) – Curativo com o uso da terapia fotodinâmica em participantes com lesões na face.

Também serão utilizados dados dos prontuários referentes as avaliações clínicas, resultados dos exames registrados em prontuários.

Objetivo da Pesquisa:
Objetivo da pesquisa:
De acordo com o arquivo denominado "Projetodetalhadoleshimaniose", página 11:
Objetivo Geral – Desenvolver protocolos utilizando a terapia fotodinâmica e ozonioterapia no tratamento de feridas de LTC em humanos visando a melhora na cicatrização da ferida
1.2.2 Objetivos específicos
1. Avaliar os efeitos da Terapia Fotodinâmica utilizando o fotossensível, azul de metileno a 1% ou solução em gel a base de protoporfirina, e LED na faixa do vermelho (= 630 nm) visando a redução do tempo de cicatrização das lesões cutâneas de LTA.
2. Avaliar os efeitos da Ozonioterapia visando a redução do tempo de cicatrização das lesões cutâneas de LTA.
3. Comparar os efeitos das duas técnicas terapêuticas associadas nas lesões cutâneas de LTA.
4. Desenvolver os protocolos terapêuticos para as lesões cutâneas de LTA.
5. Caracterizar as lesões de LTA através dos registros fotográficos semanalmente por meio do Software Image J ® como uma opção quantitativa de avaliação para a redução das feridas".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
De acordo com o arquivo denominado "Tcleatualizado", página 02:
RISCOS
"5. Riscos: Os riscos ao Senhor (a) (participante) será de um possível constrangimento ao expor uma parte do corpo ao pesquisador, sendo que este risco será minimizado uma vez que o procedimento será realizado em um espaço restrito, apenas ao Senhor (a) (participante) e aos pesquisadores. Também a ocorrência de frustações pode acontecer devido à demora no processo de cicatrização. Para minimiza esses riscos, o Senhor (a) (participante) poderá ser encaminhado ao psicólogo da clínica escola da instituição (Fundação Esperança) local onde a pesquisadora é alocada para trabalhar.

6. As imagens obtidas das lesões serão utilizadas neste estudo sem qualquer forma de identificação do Senhor (a) (participante). Será utilizado um Iphone modelo IOS 6 para registros das imagens das lesões de leishmaniose cutânea com o aplicativo ImageJ®, para a mensuração da área das feridas. Caso o (a) Senhor (a) não aceitem registrar as imagens das lesões poderá informar no momento da coleta de dados desta pesquisa."

BENEFÍCIOS

De acordo com o arquivo denominado "Tcleatualizado", página 02:

"7. Benefícios: Como benefício o (a) Senhor (a) receberá um tratamento alternativo nas lesões da leishmaniose cutânea com intuito de reduzir o tempo de cicatrização das lesões e assim impactando positivamente na autoestima e na qualidade de vida do Sr (a). Ressalta-se que o (a) Sr (a) continuará recebendo o tratamento medicamentoso preconizado pelo ministério da saúde, aliado a prática de curativos como tratamento complementar.

8. O (A) Senhor (a) estão sendo convidados a participar do estudo, através da autorização da coleta do seu atendimento durante o atendimento na Divisão de vigilância de saúde local da pesquisa, sendo devidamente esclarecidos quanto aos seus objetivos, riscos e benefícios e, a seguir, assinarão o TCLE elaborado em duas vias, sendo assim, o (a) Senhor (a) (participante) receberá uma via do TCLE e no qual todas as folhas do mesmo serão rubricadas e assinadas ao final. Além dos cuidados com o TCLE, medidas de precaução em relação a ocorrência de constrangimento ou danos serão tomadas (realização do curativo em locais reservados, armazenamento dos dados em pastas codificadas)."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de Doutorado com a temática da Leishmaniose Tegumentar Americana Cutânea (LTAC), uma doença de grande relevância para a saúde pública e em diferentes partes do mundo.

Este estudo tem o objetivo de desenvolver protocolos utilizando a Terapia fotodinâmica e a ozonioterapia no tratamento de feridas de Leishmaniose Tegumentar Cutânea em humanos visando a melhora na cicatrização das lesões.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE e TCUD apresentados.

Recomendações:

Recomenda-se a inserção de rubrica em todas as folhas do TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomenda-se a inserção de rubrica em todas as folhas do TCLE.

Considerações Finais a critério do CEP:

APROVADO, condicionando à inserção de rubrica em todas as folhas do TCLE.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2049656.pdf	03/01/2023 10:53:57		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodetalhadoleshimaniose.pdf	03/01/2023 10:52:42	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Outros	tcudatualizado.pdf	03/01/2023 10:49:20	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Tcleatualizado.pdf	03/01/2023 10:48:25	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoFrancianeassinada.pdf	14/11/2022 17:53:20	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Declaração de concordância	declaracaodeconcordancia.pdf	11/11/2022 16:05:44	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaoLivia.pdf	11/11/2022 16:04:40	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaofranciane.pdf	11/11/2022 16:04:17	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	11/11/2022 15:59:17	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	11/11/2022 15:58:22	Franciane Aguiar Santana Matos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Dr. Almeida Lima, 1.134 - 2º andar - sala 207
Bairro: Mooca **CEP:** 03.164-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2790-4658 **E-mail:** cep.uam@animaeducacao.com.br

SAO PAULO, 16 de Fevereiro de 2023

Assinado por:
CARLOS ROCHA OLIVEIRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Dr. Almeida Lima, 1.134 - 2º andar - sala 207
Bairro: Mooca **CEP:** 03.164-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2790-4658 **E-mail:** cep.uam@animaeducacao.com.br