

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL

LEANDRO CORREA MACHADO

**INFECÇÃO POR *LEISHMANIA* SPP. EM PACIENTES IMUNODEFICIENTES
NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**

BRASÍLIA

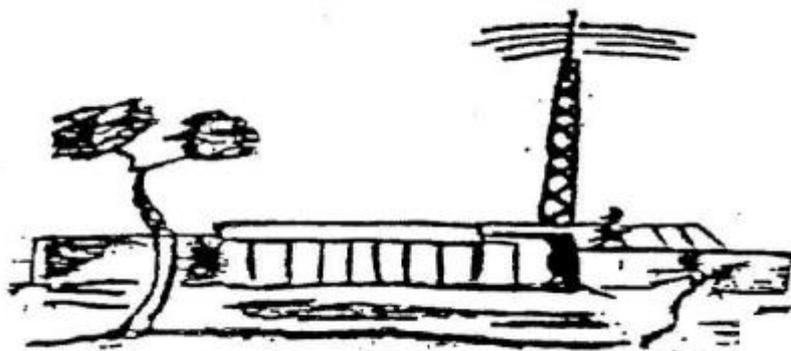
2014

**INFECÇÃO POR *LEISHMANIA* SPP. EM PACIENTES IMUNODEFICIENTES
NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**

LEANDRO CORREA MACHADO

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade de Brasília para a obtenção do título de mestre em Medicina Tropical, na área de concentração: Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Prof. Gustavo Adolfo Sierra Romero



Brasília
2014

IV. BANCA EXAMINADORA

Leandro Correa Machado

INFECÇÃO POR *LEISHMANIA* SPP. EM PACIENTES IMUNODEFICIENTES NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Medicina Tropical: Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias

DATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO

22 de agosto de 2014

BANCA EXAMINADORA

Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero - Universidade de Brasília

Dr. José Ângelo Lauletta Lindoso - Universidade de São Paulo

Dr. César Omar Carranza Tamayo – Universidade de Brasília

Dr. Maria Regina Fernandes de Oliveira – Universidade de Brasília (suplente)

M149i Machado, Leandro Correa.
Infecção por *Leishmania* spp. em pacientes imunodeficientes no Hospital Universitário de Brasília / Leandro Correa Machado. -- 2014.
79 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Núcleo de Medicina Tropical, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2014.

Inclui bibliografia.

Orientação: Gustavo Adolfo Sierra Romero.

1. Universidade de Brasília. Hospital Universitário de Brasília. 2. Leishmaniose visceral. 3. AIDS (Doença) - Pacientes. 4. Reumatismo. 5. Rins - Transplante.

I. Romero, Gustavo Adolfo Sierra. II. Título.

CDU 616.993.161

V. DEDICATÓRIA

Aos meus pais, irmãos e família pelo apoio e torcida.

A Tábata Longo pelo amor, companheirismo e incentivo.

VI. AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre estar ao meu lado e nunca me abandonar em toda esta trajetória. Sei que sem Ele a vida perde a razão e o sentido, muito obrigado por tudo.

Ao Prof. Gustavo Adolfo Romero, professor e coordenador do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília, pela excelente orientação, competência e incentivo à pesquisa. A gratidão e os conhecimentos por mim adquiridos tornam-se indescritíveis em um simples texto, agradeço pela confiança e conselhos dados para a conclusão deste trabalho.

Ao Dr. José Ângelo Lauletta Lindoso por aceitar participar da banca examinadora.

À Dr. Elza Ferreira Noronha pelo seu rico conhecimento do serviço que foi de grande valia para minha formação.

Ao Dr. César Omar Carranza Tamayo por aceitar participar da banca examinadora.

A todos docentes deste Núcleo que participaram diretamente e indiretamente neste trabalho como os Professores Pedro Tauil, Maria Regina Fernandes, Ana Nogales, David Duarte, Cleudson Castro, João Barberino e todos os outros muito obrigados.

Aos grandes amigos que sempre me apoiaram e fizeram deste caminho tudo mais simples e divertido é claro, Glauco, Paulo.

A minha esposa Tábata Machado, por toda compreensão, amor, incentivo e paciência nas horas mais difíceis de mais uma conquista. Mesmo com a distância, meu carinho e admiração só aumentam por você.

A minha família Pai, mãe, Irmãs, por todo amor e incentivo que foram vitais para o alcance de todos os meus objetivos.

Aos meus amigos do HUB por terem me apoiado e pegados muitos dos meus plantões para eu terminar esse projeto.

Muito obrigado!

Lista de tabelas e figuras

Tabela 01. Características dos participantes acompanhados no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Tabela 02 – Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Tabela 03. Características dos participantes vivendo com HIV/Aids acompanhados no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Tabela 04. Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas vivendo com HIV/Aids acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Tabela 05. Características dos participantes com doenças reumatológicas em uso de drogas imunossupressoras acompanhados no Hospital Universitário de Brasília no Distrito Federal, 2014.

Tabela 06. Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas imunossuprimidas com doenças reumáticas acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Tabela 07. Positividade dos testes para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas imunossuprimidas submetidas a transplante renal acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Figura 1. Distribuição dos valores do índice de reatividade no teste ELISA rK39 em pacientes imunodeprimidos ou imunossuprimidos atendidos no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, 2014.

Figura 2. Distribuição dos valores do índice de reatividade no teste ELISA rK39 em pessoas vivendo com HIV/aids (infecologia), pacientes transplantados renais (transplante) e pacientes portadores de doenças reumatológicas (reumatologia) atendidos no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, 2014.

Siglas e abreviações

CNES: Cadastro Nacional de Estabelecimentos em Saúde

CO: centro-oeste

DAB: Departamento de Atenção Básica

DAT: testes de aglutinação direta

DATASUS: Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde

T CD4+: Linfócito T CD4 positivo

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFAT: teste de imunofluorescência

LV: leishmaniose visceral

MS: Ministério da Saúde

N: norte

NE: nordeste

PNUD: Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento

PVHA: pessoas vivendo com HIV/aids

RIFI: reação de imunofluorescência indireta

rK39: antígeno recombinante K39

SE: sudeste

SIM: Sistema de Informação de Mortalidade

Sinan: Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SVS: Secretaria de Vigilância em Saúde

UF: Unidades Federativas

ÍNDICE

.RESUMO	10
1 INTRODUÇÃO	14
2 JUSTIFICATIVA	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 <u>Objetivo geral</u>	25
3.2 <u>Objetivos específicos</u>	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Tipo de estudo	26
4.2 Local de estudo	26
4.3 Pacientes	26
4.4 Procedimento de coleta de dados e coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas	27
4.5 Análise estatística.....	28
4.9 Aspectos éticos.....	33
5 RESULTADOS	34
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÕES	53
8 REFERÊNCIAS	55
Apêndices e anexos	66

Resumo

A transmissão da leishmaniose visceral (LV) tem sido descrita em várias regiões do Brasil. Progressivamente, tem sido observada a urbanização da doença, associada ao processo migratório para as cidades de médio e grande porte, sendo evidente a concentração dos casos nesses centros urbanos. A letalidade pela LV nos últimos anos vem aumentando gradativamente, principalmente em pessoas vivendo com HIV/AIDS. . Nesses pacientes, a LV apresenta pior prognóstico caracterizado por recidivas frequentes e maior letalidade. Ao mesmo tempo, o número de relatos de reativação de LV em pessoas submetidas à imunossupressão para fins terapêuticos tem aumentado. O presente estudo descritivo transversal foi desenvolvido em amostra de conveniência com o objetivo principal de estimar a prevalência da infecção assintomática por *Leishmania* spp. e pacientes imunodeficientes do Hospital Universitário de Brasília. Foram avaliados 146 pacientes divididos em três grupos: pessoas vivendo com HIV/AIDS (48 participantes); imunossuprimidos pelo tratamento de doenças reumáticas (47 participantes) e; pacientes submetidos a transplante renal (51 participantes). Amostras de sangue obtidas dos participantes foram submetidas à detecção de DNA do parasito por meio da PCR- ITS1 e detecção de anticorpos específicos anti-*Leishmania* por meio dos testes de aglutinação direta DAT, imunofluorescência indireta IFAT e o teste imunocromatográfico rápido baseado no antígeno recombinante rK39. Foi encontrada uma positividade em pelo menos um dos testes em 23 dos 146 pacientes, sendo estimada uma prevalência de 17,2% (IC95% 11,6 a 24,4). Vinte e dois participantes apresentaram positividade no teste ELISA-rK39 (15,0%); cinco (3,4%) participantes apresentaram

positividade no DAT; um participante apresentou positividade no teste rápido ICT-rK39 (0,6%) e um participante (0,6%) teve resultado positivo no teste de imunofluorescência indireta. Nenhuma amostra teve resultado positivo na PCR-ITS1 e em todas as amostras foi possível amplificar o gene de actina humana. A concordância bruta entre os testes foi baixa e os resultados sugerem a necessidade de uso combinado de múltiplos testes para melhorar a capacidade de detecção da infecção assintomática por *Leishmania* spp. na população com déficit de imunidade.

Palavras-chave: *Leishmania*; HIV; Aids; Transplante renal; Doença reumática; imunodepressão; imunossupressão.

Abstract

The propagation of visceral leishmaniasis (VL) has been described in many regions of Brazil. Gradually, the urbanization of the disease has been observed, associated to the migration process of people to cities of medium and large size, the concentration of many cases being evident in those urban centers. The lethality of VL in recent years has increased gradually, mostly in people with HIV/AIDS. In these patients, VL has a worse prognosis which is characterized by frequent relapses and increased mortality. At the same time, the number of reports of reactivation of VL in people submitted to immunosuppression for therapeutic purposes has increased. This cross-sectional study was conducted in a sample of convenience with the main objective of estimating the prevalence of asymptomatic infection with *Leishmania spp.* and immunodeficient patients treated at the University Hospital of Brasília. This study evaluated 146 patients divided into three groups: people living with HIV/AIDS (48 participants), those immunosuppressed by treatment of rheumatic diseases (47 participants), and patients undergoing kidney transplant (51 participants). Blood samples taken from the participants were subjected to the detection of parasite DNA by PCR-ITS1 and detection of specific anti-*Leishmania* antibodies through direct agglutination test (DAT), indirect immunofluorescence (IFAT), the rapid test based on rK39 antigen (ICT-rK39 test) and the immunoassay based on recombinant antigen rK39 (ELISA-rK39). Positivity was found in at least one of those tests in 23 of 146 patients, an estimated prevalence of 17.2% (IC 95% 11.6 a 24.4). Twenty-two participants tested positive on ELISA-rK39 (15,0%); five (3.4%) participants tested positive on DAT; one participant was positive on ICT-rK39 (0.6%) and one participant (0.6%) was positive on IFAT. No sample tested positive on PCR-ITS1 and in all samples it was possible to amplify the gene of human actin. The crude agreement between tests was low and the results suggest the need for combined use of multiple tests to improve the capacity to detect asymptomatic infection by *Leishmania spp.* in the immunodeficient population. .

Key words: *Leishmania*; HIV; AIDS; Kidney transplantation; Rheumatic diseases; Immunosuppression.

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma antropozoonose associada à infecção por parasitos do gênero *Leishmania*. A LV é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das doenças prioritárias que afetam populações caracterizadas pela pobreza e para as quais não existe tratamento e medidas de controle ou eliminação efetivos (OMS, 2012).

As espécies do parasito capazes de produzir a síndrome de LV são *L. infantum* (sin. *L. chagasi*) e *L. donovani*. Outras espécies, tais como *L. amazonensis*, tem sido eventualmente associadas à síndrome de LV, no entanto, a sua relevância dentro do contexto geral da doença é limitada (LAINSON; RANGEL.,2005). O homem adquire a infecção principalmente pela picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas e mais raramente pelo compartilhamento de agulhas contaminadas ou pela via congênita. (AMELA et al.,1996; MESCOUTO-BORGES et al.,2013) A transmissão da infecção por transfusão sanguínea também é uma possibilidade que tem sido investigada. (FUKUTANI et al.,2014)

L. infantum tem como principal reservatório o cão doméstico e no ambiente silvestre a transmissão envolve canídeos como a raposa e provavelmente roedores. (SILVEIRA et al.,1982.; BERN C et al.,2008). *L. infantum* apresenta distribuição geográfica predominante na bacia do Mediterrâneo e no continente americano. Por outro lado, *L. donovani* tem como reservatório o próprio homem, constituindo assim uma antropoonose e a sua distribuição geográfica abrange principalmente o subcontinente Indiano

e a África oriental.

Existe grande dificuldade para estimar a magnitude da LV no mundo, havendo grande heterogeneidade na qualidade da informação disponível. No entanto, estima-se que, anualmente, ocorram entre 0,2 a 0,4 milhões de casos e 20 a 40 mil óbitos pela doença. Os países mais afetados são: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão, Etiópia e Brasil (MAIA-ELKHOURY et al., 2008, ALVAR et al., 2012,).

No Brasil, o ciclo de transmissão da LV com características rurais permaneceu mais ou menos estável até os anos de 1980 e progressivamente apresentou dispersão para centros urbanos onde a zoonose caracteriza-se pela presença de um número relevante de casos humanos e grande número de cães infectados/doentes em várias cidades de médio e grande porte.

(BELO et al., 2013)

Pelo fato da urbanização da LV no Brasil ser um fenômeno relativamente novo, pouco se conhece sobre a epidemiologia da LV nos focos urbanos. As relações entre os componentes da cadeia de transmissão e os fatores associados ao risco de infecção no cenário urbano parecem ser bem mais complexas e variadas do que no ambiente rural. (CARRANZA-TAMAYO et al., 2010)

De acordo com o Ministério da Saúde, dos 27 estados brasileiros 21 já notificaram casos autóctones da enfermidade em humanos, principalmente

nas regiões norte, sudeste e nordeste, com mais de 1.300 municípios apresentando casos da doença (BRASIL, 2012). Em 1999, 92,9% dos casos de LVA estavam concentrados na região nordeste e apenas 2,6% no sudeste, com a expansão territorial da doença em 2011 a distribuição de casos humanos passou a ser de 47,8% e 15% identificados, respectivamente, nas regiões nordeste e sudeste do Brasil (BRASIL, 2012).

Associado a isso, a enfermidade passou a ser identificada em diversas cidades brasileiras, tais como Corumbá (MS), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Palmas (TO) e Três Lagoas (MS). Isso se deve, em parte, à alta capacidade adaptativa da *Lutzomyia longipalpis*, principal vetor incriminado na transmissão da doença no Brasil (LAINSON; RANGEL, 2005).

A autoctonia de casos de LV no Distrito Federal (DF) foi confirmada a partir de 2005 e no ano de 2013 o DF notificou 47 casos de LV, sendo apenas dois autóctones. Ocorreram, no período, dois óbitos. (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2014; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2014a) De janeiro a março de 2014, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 32 casos suspeitos da doença no DF, com onze casos confirmados, sendo um autóctone(OPAS,2013).

Clinicamente, a LV comporta-se como uma infecção crônica, com sintomas e sinais caracterizados por febre de longa duração, perda de peso, hepatoesplenomegalia e anemia, dentre outras manifestações. A LV é

potencialmente fatal para o homem, quando não tratada adequadamente e mesmo quando tratada pode apresentar letalidade de 10 a 20 %. (GAMA et al., 2004)

Existem poucos estudos sobre a evolução natural da infecção por *L. infantum* no Brasil. Badaró et al. (1986) estudaram um grupo de crianças assintomáticas que tinham anticorpos contra *Leishmania* detectáveis no sangue periférico e demonstraram que a evolução clínica da infecção é variável. Nesse estudo, 23,2% dos indivíduos permanecem assintomáticos; 17,4% desenvolveram sinais característicos da forma subclínica; dos quais 15,1% progrediram para a doença clássica e 44,2% apresentaram regressão espontânea da forma subclínica após um período de tempo prolongado (BADARÓ et al 1986).

Considerando que o Ministério da Saúde do Brasil definiu como meta prioritária a redução da letalidade por LV, os estudos para investigar os fatores de prognóstico associados ao óbito ganharam recentemente maior relevância. O manual de recomendações para a redução da letalidade propõe o uso de algumas características para identificar os pacientes com mau prognóstico para intervir oportunamente evitando o desfecho letal. Baseado nos estudos disponíveis a proposta inclui um sistema de escores para uso rotineiro no cenário clínico abrangendo características clínicas e laboratoriais. Dentro dessas características cabe destacar a infecção pelo HIV (BRASIL, 2011). Em estudo recente, Belo, et al., (2014) mostrou que icterícia, trombocitopenia, hemorragias, co-infecção com HIV, diarreia, idade menor

que 5 anos e maior de 50 anos, neutropenia grave, dispneia, infecções bacterianas concomitantes, edema e níveis baixos de hemoglobina estão associados com um desfecho desfavorável.

A taxa de infecção pelo HIV/aids vem se elevando no Brasil, com taxas de incidência, entre os anos de 2000 e 2012, de 16,62 para 20,2 por 100 mil habitantes.²³ Estima-se em 718 mil o número de pessoas vivendo com HIV/Aids atualmente no Brasil. No ano de 2012, foram notificados 39.185 novos casos de Aids e 11.896 óbitos em decorrência da doença. A taxa de detecção observada na Região Centro-Oeste foi de 19,5 casos novos por 100 mil habitantes, abaixo da média nacional. Entretanto, de 2003 a 2012, houve um crescimento de 6% na taxa de incidência de HIV/Aids na região. Com relação aos óbitos, a taxa de mortalidade no Brasil diminuiu 14% entre 2002 e 2012, porém aumentou 4,4% na região centro-oeste.(BRASIL, 2013.)

A LV pode apresentar comportamento oportunista em indivíduos co-infectados com o HIV (ALVAR et al., 1997). Nesses pacientes, a LV apresenta pior prognóstico caracterizado por recidivas frequentes e maior letalidade (COTA et al., 2014). Outro problema característico da co-infecção *Leishmania*/HIV é a dificuldade para confirmar o diagnóstico com os métodos disponíveis que em geral perdem parte da sua acurácia (COTA et al., 2013).

Na mesma linha, com o aumento do número de transplantes, destacando-se o transplante renal como um dos mais realizados no Brasil e no mundo, associado ao uso de drogas imunossupressoras cada vez mais

potentes, os pacientes receptores tornam-se mais vulneráveis a infecções com comportamento potencialmente oportunista como a LV (COTA et al., 2011).

A partir de 1979, quando foi descrito o primeiro caso de infecção sintomática por LV em paciente submetido a transplante renal, um número considerável de todas as formas de leishmaniose tem sido observado entre transplantados. A LV é predominantemente descrita como complicação de transplantes renais, o que pode estar relacionado à maior frequência do transplante renal quando comparado com o transplante de outros órgãos. Até hoje, pelo menos 110 casos de LV foram relatados na literatura após transplante e 71, após transplante renal (COTA et al., 2013.; ALVES DA SILVA et al., 2013).

A LV em pacientes transplantados pode acontecer de três maneiras: a primeira é a típica via de transmissão por meio da picada do flebótomo após o transplante; a segunda é a reativação de uma infecção latente prévia ao transplante, induzida por drogas imunossupressoras; e a terceira é a aquisição iatrogênica de *Leishmania* por meio do enxerto de um doador infectado ou transfusão de sangue contaminado com os parasitos. (BOUCHEKOUA et al., 2013; POSTORINO et al., 2011)

O risco de desenvolver leishmaniose entre pacientes transplantados está associado à região geográfica na qual o receptor e o doador do órgão residem, sendo maior em áreas endêmicas. Entretanto, casos de LV têm sido

descritos em áreas não endêmicas da doença após viagem para regiões onde a doença tem alta prevalência (OLIVEIRA et al., 2013).

O tratamento cada vez mais agressivo de doenças reumáticas também contribui para o aumento do risco de infecções oportunistas. Pacientes com diagnóstico de artrite reumatoide tratados com antagonistas de receptor TNF alfa, medicação imunossupressora, veem apresentando um número crescente de infecções oportunistas, e a LV é uma delas.

O diagnóstico de leishmaniose envolve testes cutâneos, parasitológicos, sorológicos e moleculares. O teste de Montenegro é um teste cutâneo que afere a reação de hipersensibilidade tardia, mediada por células. Uma das aplicações do teste é o rastreio de casos assintomáticos (WINTHROP et al., 2006). Os testes parasitológicos consistem na visualização direta do parasito em amostras teciduais. Possuem alta especificidade e uma sensibilidade reduzida (de 53% a 86%), pois dependem da representatividade da amostra e da qualidade da leitura (DIXON et al., 2006).

Os testes moleculares destinam-se à pesquisa do material genético do parasito por meio da amplificação mediada por PCR. Várias amostras podem ser utilizadas, como sangue periférico, aspirado de medula óssea e biópsias hepáticas ou esplênicas. Em geral, são testes de elevada sensibilidade (acima de 90%) e especificidade (100%) (MICHELA et al., 2011).

Os exames sorológicos incluem o teste de aglutinação direta (DAT), o teste imunocromatográfico (ICT) e a imunofluorescência indireta (IFAT). Em populações com LV sem outras comorbidades o DAT apresenta sensibilidade entre 95 e 99%; o ICT apresenta sensibilidade de 93% e o ELISA rK39 apresenta sensibilidade de 97% (MACHADO DE ASSIS et al., 2012; MACHADO DE ASSIS, et al., 2008; BOELAERT et al., 2014). Já o IFAT possui a menor sensibilidade, com valores entre 88 e 92% (BOELAERT et al., 2014).

Quanto aos métodos diagnósticos na co-infecção *Leishmania*/HIV, a detecção do parasito pela microscopia ou cultura em amostras de diferentes tecidos é considerada o teste de referência. A técnica mais utilizada em nosso meio é a pesquisa direta do parasito em material aspirado de medula óssea, cuja sensibilidade é variável e depende do tempo dedicado à observação das lâminas. (SILVA, 2005). Outros locais também podem servir como fonte de material para análise, a exemplo do sangue periférico, do baço, do fígado e de linfonodos.

Os testes sorológicos têm valor diagnóstico limitado nos pacientes coinfectados pelo HIV, uma vez que se estima que mais de 40% dos pacientes soropositivos não apresentam níveis de anticorpos contra *Leishmania* spp. que possam ser detectados pelos testes disponíveis (COTA et al., 2013). Estão incluídos nessa categoria a imunofluorescência indireta, testes imunoenzimáticos, o teste imunocromatográfico rápido que utiliza o antígeno rK39, o *immunoblotting* e o teste de aglutinação direta. Dentre eles,

os que apresentam melhor desempenho em pessoas co-infectadas são o imunoblot e o teste de aglutinação direta, com sensibilidade aferida de 84% e 81%, respectivamente (COTA et al., 2013). Estima-se que a sensibilidade do teste imunoenzimático seja de 66% e a da imunofluorescência indireta de 51%. Em estudo realizado com 113 pacientes com HIV/Aids, no Brasil, utilizando como teste de referência a pesquisa direta em lâmina e a cultura de aspirado de medula óssea, foi estimada em 46,3% a sensibilidade de um teste imunocromatográfico rápido com antígeno recombinado K39 em pacientes coinfetados (COTA et al., 2013):

O exame molecular por meio da PCR que tem como alvo regiões conservadas do DNA do cinetoplasto (kDNA) constitui o teste diagnóstico mais sensível na co-infecção *Leishmania*/HIV, com sensibilidade estimada de 92% (83 a 98%) e 98% (93% a 100%) quando realizada com sangue periférico e aspirado de medula óssea, respectivamente (BOUCHEKOUA et al., 2014).

Quanto à especificidade dos exames na população co-infectada, a PCR é o mais específico (96%), seguido da imunofluorescência indireta (93%) e finalmente o teste de aglutinação direta e o ELISA, ambos com 90% de especificidade (CARRANZA-TAMAYO et al., 2009). Cota et al., (2012), no estudo já citado, encontrou especificidade de 97,1% para o teste imunocromatográfico rápido rK39(CLEMENTE et al., 2014):

Os estudos sobre a acurácia dos testes diagnósticos em pacientes transplantados e em pacientes com doenças reumatológicas submetidos a imunossupressão são limitados a séries de casos e em geral é necessário lançar mão de todas as metodologias de diagnóstico disponíveis com o objetivo de aumentar a sensibilidade na detecção dos casos (CLEMENTE et al., 2014)

Nesse cenário, o conhecimento da magnitude de infecções assintomáticas por *Leishmania* spp é de vital importância para o planejamento de programas de saúde e para o acompanhamento de pacientes imunodeficientes visando um diagnóstico e tratamento precoce, diminuindo a mortalidade desses pacientes (CLEMENTE et al., 2014)

2. JUSTIFICATIVA

No Brasil, a LV é provocada por *L. infantum*, protozoário do gênero *Leishmania* que é transmitido por vetores flebotomíneos. A maioria dos indivíduos infectados pelo parasito desenvolve formas assintomáticas, sendo pequena a parcela que apresenta as formas clínicas ou subclínicas.

Atualmente, o DF é considerado uma região endêmica para essa moléstia tropical. Segundo a Diretoria de Vigilância Epidemiológica da SES-DF, em 2013 foram relatados 98 casos suspeitos e confirmados 47 casos de LV, dos quais 2 autóctones. Pacientes que precisam submeter-se a tratamento imunossupressor e os com estado de imunodepressão compõem uma população de risco, com probabilidade mais elevada de desenvolver sintomas em casos de primoinfecção ou reativação da infecção latente por *L. infantum*.

O Hospital Universitário de Brasília é um centro de referência para o tratamento de pacientes vivendo com HIV/aids, para pacientes com diagnósticos reumatológicos e em transplante renal, o que o leva a ser procurado por pacientes de todo o DF como também de vários estados brasileiros, fazendo com que ele tenha um grande número de pacientes de perfis socioepidemiológicos diferentes.

O monitoramento cuidadoso e a pesquisa rotineira do parasito nessa população, associados ao estudo dos aspectos epidemiológicos e clínicos, permitem a elaboração de intervenções profiláticas e promovem agilidade e efetividade na realização do diagnóstico e do tratamento, reduzindo a morbidade e a letalidade associadas à LV.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estimar a magnitude da co-infecção *Leishmania*/HIV-aids e da infecção por *Leishmania* em uma população de pacientes submetida à imunossupressão para tratamento das doenças reumatológicas ou submetidos a transplante renal no Hospital Universitário de Brasília.

3.2 Objetivos específicos

- Estimar a prevalência da infecção assintomática por *Leishmania* em pacientes soropositivos para HIV, pacientes submetidos a imunossupressão como tratamento para doenças reumatológicas e pacientes submetidos a transplante renal
- Comparar o desempenho das técnicas utilizadas para estimar a prevalência de infecção assintomática.
- Explorar a relação entre variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais e a positividade nos testes diagnósticos.

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo descritivo transversal.

4.2 Local de estudo

O estudo foi realizado nos ambulatórios e enfermarias de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Reumatologia e Transplante Renal do Hospital Universitário de Brasília (HUB) no Distrito Federal. A instituição funciona como centro de referência para atendimento de pessoas vivendo com HIV/aids, artrite reumatóide e transplante renal.

4.3 Pacientes

Foram convidados a participar do estudo pacientes dos ambulatórios e enfermarias de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Reumatologia e Transplante Renal do Hospital Universitário de Brasília que cumpriram com os seguintes critérios:

4.3.1 Critérios de inclusão

- Ser maior de 18 anos;
- Ter diagnóstico de HIV-aids pelo método ELISA, confirmado com Imunofluorescência Indireta (IFI) ou *Western Blot*; ou estar submetido a tratamento imunossupressor para doenças reumatológicas ou após transplante renal;
- Realizar acompanhamento ambulatorial ou estar internado no HUB; e
- Concordar em participar voluntariamente e assinar o termo de

consentimento informado, livre e esclarecido.

4.3.2 Critérios de exclusão

- Gestantes

4.3.3 Definição de caso suspeito de leishmaniose visceral

Foi definido como caso suspeito o paciente com síndrome clínica caracterizada por no mínimo duas das seguintes condições:

- Febre por mais de duas semanas sem outro diagnóstico etiológico;
- Hepatomegalia ou esplenomegalia; e
- Presença de qualquer citopenia: anemia, leucopenia ou plaquetopenia.

4.3.4 Definição de caso confirmado de leishmaniose visceral

Foi definido como caso confirmado o paciente com a síndrome suspeita, descrita acima, que apresentou diagnóstico parasitológico, sorológico, ou detecção de DNA do parasito em qualquer tecido, sangue o medula óssea por meio da técnica de PCR.

4.3.5 Definição de infecção assintomática por *Leishmania* spp.

A infecção assintomática foi definida como a presença de resultados positivos nos exames acima descritos para diagnóstico de leishmaniose em pacientes que no momento da avaliação não apresentavam os sintomas sugestivos de LV descritos acima.

4.3.6 Tamanho amostral e período de inclusão

A amostra foi constituída por conveniência e foi planejada a inclusão de 300 pacientes, o que permitiria estimar a frequência de eventos que se apresentassem em pelo menos 5% dos pacientes com uma precisão de +/- 2,0%. O período de inclusão foi de janeiro a março de 2014.

4.4 Procedimento de coleta de dados e coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas.

Os pacientes foram abordados na sala de espera da consulta médica onde foram convidados a participar voluntariamente no estudo. Caso manifestassem interesse em participar, foram convidados para conversar em um consultório onde foi explicada a pesquisa e realizada a proposta formal de consentimento informado livre e esclarecido com a sua respectiva assinatura (Apêndice 1). Após a abordagem inicial e a assinatura do termo de consentimento o paciente foi entrevistado para obtenção de dados demográficos, clínicos e epidemiológicos relevantes (Apêndice 2) e posteriormente foi submetido ao exame clínico para investigar sinais sugestivos de LV e a coleta de amostras sanguíneas.

Os pacientes que foram abordados nas enfermarias foram convidados a participar do estudo e, caso manifestassem interesse, foi realizada à beira do leito a leitura e assinatura do TCLE. O preenchimento dos questionários (Apêndice 2) e o exame físico assim como a coleta de sangue também foram realizados à beira do leito, usando a mesma técnica aplicada aos pacientes ambulatoriais.

Após o exame clínico, foi coletada com técnica asséptica uma amostra de 8 mL de sangue por punção venosa em dois tubos com 4 mL cada um. O sangue foi coletado sob técnica asséptica e conservado em tubos com anticoagulante EDTA. As amostras sanguíneas foram transportadas para o laboratório em caixa de isopor, resfriadas com pacotes de gelo. Uma amostra foi submetida à centrifugação (10.000 rpm durante 10 minutos) para a separação do plasma e a segunda foi reservada para a extração de DNA.

As amostras foram separadas em alíquotas para a realização dos testes sorológicos. O sangue para a realização dos testes moleculares foi armazenada a -20°C até o momento da realização dos procedimentos de extração de DNA e a reação em cadeia pela polimerase (PCR). O material excedente foi mantido permanentemente em freezer a -70°C, nos casos em que os participantes do estudo aprovaram tal tipo armazenamento conforme a resolução específica do CNS 441/2011.

As amostras para a realização da RIFI e do teste imunocromatográfico rápido foram enviadas ao Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (Lacen-DF) em caixas térmicas com pacotes de gelo e no destino foram mantidas a -20°C até a realização dos testes.

As amostras para a realização dos testes DAT e ELISA rK39 foram enviadas em caixa térmica em gelo seco para o Centro de Pesquisa Clínica do Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz, em Belo Horizonte, Minas Gerais (CPqRR) e mantidas no destino a -20° C, até a realização dos ensaios.

4.4.1 Exames laboratoriais

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunocromatográfico rápido com antígeno recombinado K39 (Kalazar detect) foram realizados no Lacen-DF. O teste de aglutinação direta e o teste imunoenzimático ELISA com antígeno recombinado rK39 foram realizados no CPqRR.

Ensaio imuno-enzimático com antígeno recombinado rK 39 (ELISA-rK39)

O teste foi realizado com reagentes *in house* de acordo com o descrito por Pedras et al., (2008).

Teste imunocromatográfico rápido com antígeno recombinado K39 (Kalazar Detect):

Foi utilizado o teste rápido Kalazar Detect (*In Bios*, Estados Unidos da América do Norte) fornecido pelo Lacen-DF. O teste foi realizado em amostras de plasma, seguindo rigorosamente as instruções do fabricante (Anexo 1).

Teste de aglutinação direta – DAT-LPC

O DAT-LPC foi realizado com reagentes *in house* preparados no CPqRR, conforme descrito por Oliveira e colaboradores (2013). Os resultados foram expressos como positivos ou negativos de acordo com o ponto de corte estabelecido, sendo considerados positivas as amostras reagentes na diluição maior ou igual a 1/6.400.

Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Foi utilizado o teste IFI – Leishmaniose Humana – Bio-Manguinhos (Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) conforme as indicações do fabricante (Anexo 2). Considerou-se positivo o resultado reagente com título >40 (diluição da amostra a partir de 1:80) com clínica sugestiva de LV.

Reação em cadeia pela polimerase ITS1 (PCR-ITS1)

Os testes de detecção de DNA de *Leishmania* spp foram realizados em amostra de sangue venoso. A extração de DNA de 300uL de sangue venoso foi realizada utilizando o kit comercial *Genomic Prep Blood Isolation Kit (Amersham Biosciences, UK)* seguindo as recomendações do fabricante. O material obtido foi suspenso em solução de hidratação do próprio kit e armazenado entre 2 e 8°C até o momento da amplificação. Os iniciadores utilizados, LITSR (5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3') e L5.8S (5'TGATACCACTTATCGCACTT-3'), permitem a amplificação de uma sequência do espaçador interno transcrito do RNA ribossômico de *Leishmania* spp de aproximadamente 300 a 350 pares de bases como descrito por Schönian e colaboradores (2003).⁶⁸ O volume final da reação foi de 50 uL. Os produtos da amplificação foram revelados em géis de poliacrilamida 6%.

Em todas as extrações de DNA e reações foram utilizados controles positivos contendo DNA de uma cultura em crescimento exponencial de *L. (L.) chagasi* (MCER/BR/79/M6445) em meio líquido. Controles negativos contendo todos os componentes do procedimento de extração e as reações de amplificação, exceto a amostra também foram utilizados.

Todas as amostras com resultado negativo para a amplificação do

DNA foram submetidas à reação de amplificação de uma sequência de aproximadamente 800 pb do gene de actina humana, utilizando os seguintes iniciadores: *Beta actin sense* (BAS): 5'atctggcaccacaccttctacaatgagctgcg 3' e *Beta actin antisense* (BAA): 5'tactcctgcttgctgatccacatctgc 3'.

Teste de intradermorreação de Montenegro

Foi utilizado o antígeno fornecido pelo Laboratório Central da Secretaria de Saúde de Brasília. Foi injetado via intradérmica com a seringa de tuberculina ou insulina (preparado com 0,1 ml do antígeno de Montenegro) na face anterior do antebraço 1 a 3 cm abaixo da dobra do cotovelo esquerdo (dobra antecubital). A reação foi considerada negativa na ausência de qualquer sinal no ponto de inoculação ou presença de uma pápula ou nódulo com menos de 5 mm de diâmetro; e positiva, na presença de uma pápula ou nódulo, igual ou superior a 5 mm ou ulceração. A leitura foi realizada entre 48 e 72 horas após a inoculação. Foi usada a técnica da caneta esferográfica para medir a endureção. Cada frasco ampola de antígeno de Montenegro com 1 ml contém suspensão de *L. (L.) amazonensis* na concentração de 40 microgramas/ml de nitrogênio proteico.

Teste PPD

Prova tuberculínica foi aplicada conforme orientações da OMS. A dose única de 1 UT (0,02mcg) da tuberculina RT-23, em 0,1mL de diluente estabilizante (contendo 0,005% de *tween* 80), foi aplicada por via intradérmica, com critério de leitura do maior diâmetro transversal da área de endureção palpável.

4.4.2 Coleta de dados secundários em prontuário

Foi realizada a busca nos prontuários dos pacientes dos resultados de exames complementares (Apêndice 2) realizados durante o último ano de acompanhamento, incluindo a última avaliação de contagem de linfócitos T CD4+ e da carga viral de HIV.

4.5 Análise estatística

Foi utilizado para a construção e a análise dos dados o programa SPSS 20.0 (SPSS *Inc.*, *Chicago, IL*, Estados Unidos da América). O banco de dados incluiu informação sobre as características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e os resultados dos exames laboratoriais.

4.6 Aspectos éticos

O estudo foi planejado e conduzido de acordo com as disposições das resoluções do Conselho Nacional de Saúde de números 446 de 12 de dezembro de 2012 e 441 de 12 de maio de 2011 e em consonância com a Declaração de Helsinque. Todos os participantes consentiram voluntariamente e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília em 30 de agosto de 2013 (CAAE: 16536613.0.0000.0030) (Anexo 3)

5. RESULTADOS

Durante o período de estudo foram incluídos 146 pacientes. Desses, 48 pacientes (32,8%) tinham diagnóstico de HIV/Aids (GRUPO 1), 47 (32,1%) estavam em uso de medicação imunossupressora devido a doença reumatológica (GRUPO 2) e 51 (34,9%) foram submetidos a transplante renal (GRUPO 3).

Setenta e quatro participantes eram do sexo masculino a (50.6%). A idade variou de 19 a 77 anos com uma média de 45 anos. A grande maioria dos pacientes residiam no Distrito Federal (75,7%), 18,1%, em Goiás; 2,8% em Minas Gerais, 2,8% no estado do Maranhão; 1,4% em Mato Grosso e; 0,7% no Piauí.

Tabela 01. Características dos participantes acompanhados no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Características	Frequência	% (n=146)
Sexo masculino	74	50,6
Homossexuais e bissexuais	13	27,7
Idade		
17-77 anos	146	100
Conhecimento sobre a existência da doença	85	58,6%
Convivência com cães doentes	4	8,5
Renda familiar inferior a R\$ 260,00	8	5,6
Conhece a forma de transmissão da LV	28	46,6

Do total de participantes, 85 (58,6%), não tinham conhecimento sobre a existência da doença. Dos 60 pacientes que conheciam a doença, 28 (46,6%) não conheciam o modo de transmissão.

Cento e quarenta e dois pacientes informaram sobre a renda familiar. A renda familiar teve como moda o intervalo de R\$ 781,00 e R\$ 1300 reais, sendo que oito participantes (5,6%) tinham renda inferior a R\$ 260,00 reais e nove (6,3%) tinham renda maior que R\$ 7.800,00.

Quanto ao nível de instrução dos participantes, 48 (33,1%) tinham segundo grau completo e 28 (19,3%) estavam cursando ou já haviam concluído o ensino superior. Os demais participantes não tinham o segundo grau completo e desses, seis (0,41%) não tinham escolaridade.

Amostras de 100% dos participantes foram testadas para a infecção por *Leishmania* por meio dos exames: IFAT, DAT, ELISA-rK39, rK39 ICT e detecção do ITS1 do parasito pela PCR (PCR-ITS1).

Observou-se positividade em pelo menos um dos testes aplicados em 23 dos 146 pacientes estudados, permitindo estimar uma prevalência global de infecção de 15,75% (IC_{95%} 10,45 A 22,91). Vinte e dois participantes apresentaram positividade no teste ELISA-rK39 (15,0%); cinco (3,4%) participantes apresentaram positividade no DAT; um participante apresentou positividade no teste rápido ICT-rK39 (0,6%) e um participante (0,6%) teve resultado positivo no teste de imunofluorescência indireta. Nenhuma amostra teve resultado positivo na PCR-ITS1 e em todas as amostras foi possível amplificar o gene de actina humana.

Tabela 02 – Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Teste diagnóstico	Frequência	% (n=146)
Elisa rK39	22	15
DAT	5	3,4
Imunocromatográfico rK39	1	0,6
RIFI	1	0,6
PCR-ITS1*	0	0
Pelo mentos 1 teste positivo	25	17,2

* Em todas as amostras foi possível amplificar o gene de actina humana

A figura 1 mostra a distribuição dos valores do índice de reatividade do teste ELISA-rK39 nos 146 participantes.

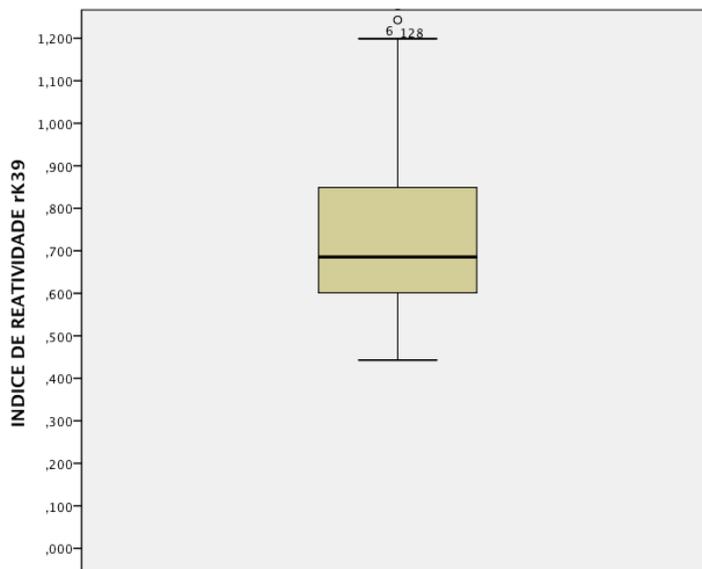


Figura 1. Distribuição dos valores do índice de reatividade no teste ELISA rK39 em pacientes imunodeficientes atendidos no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, 2014.

GRUPO 1 - Pacientes vivendo com HIV/AIDS (PVHA).

Dos 48 participantes vivendo com HIV/AIDS, 36 (75%) eram do sexo masculino. A mediana das idades foi 43 anos (23 a 60). Do total, 30 pacientes (62,5%) residiam no DF, 15 (31,2%) eram procedentes de Goiás, 1 (2,0%) do Mato Grosso e 1 (2,0%) de Minas Gerais.

Quanto ao nível de instrução, um (2,0%) participante nunca tinha estudado, 10 (20,8%) possuíam ensino fundamental incompleto, sete (14,5%) completaram o primeiro grau e 17 (35,4%) finalizaram o ensino médio. O restante teve acesso ao ensino superior. Renda familiar inferior a 1300 reais foi observada em 15 indivíduos (31,2%).

A mediana de linfócitos T CD4+ foi 371,41 (0 – 1711 células) e a mediana da carga viral do HIV foi 14.475 cópias (indetectável – 441.929)

A positividade em pelo menos um teste foi 18,7% (9/48). Um paciente estava fazendo profilaxia secundária para LV e apresentou positividade em todos os testes sorológicos utilizados. Porém esse participante, no momento da coleta de dados não apresentava manifestações clínicas de LV.

O ELISA rK39 foi positivo em 7 (14,6%) das PVHA analisadas. Três pacientes (6,2%) apresentaram positividade no DAT. Um participante deste grupo apresentou positividade na reação de imunofluorescência indireta (2,0%) e nenhum apresentou positividade no teste imunocromatográfico rápido e na PCR-ITS1. Nenhum dos pacientes apresentava a síndrome clínica da LV.

As características dos pacientes incluídos na amostra de pessoas vivendo com HIV/aids estão descritas na tabela 3. E a positividade dos testes nesse grupo está descrita na tabela 4.

Tabela 03. Características dos participantes vivendo com HIV/Aids acompanhados no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Características	Frequência	% (n=48)
Sexo masculino	36	75
Homossexuais e bissexuais	13	27,7
Idade		
19-39 anos	21	44,7
40-60 anos	26	55,3
Usuário de drogas injetáveis	1	2,1
Convivência com cães doentes	4	8,5
Residência no Distrito Federal	30	63,8
Renda familiar de até 1300,00 reais	15	32,6
Conhece a forma de transmissão da LV	11	23,4
Contagem de linfócitos T CD4+		
< 250	11	24,4
250 - 500	19	42,2
> 500	15	33,3
Carga viral do HIV		
< 50 cópias	29	64,4
50 – 5000 cópias	10	22,3
5000 – 50.000 cópias	3	6,6
> 50.000 cópias	3	6,6
Tempo de diagnóstico de HIV/Aids		
< 1 ano	4	8,5
1 a 5 anos	17	36,2
6 a 10 anos	13	27,6
➤ 10 anos	13	27,6
Em uso de TARV	43	91,5

TARV – Terapia anti-retroviral; LV – Leishmaniose visceral

Tabela 04 – Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas vivendo com HIV/Aids acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Teste diagnóstico	Frequência	% (n=48)
ELISA-rK39	7	14,6
DAT	3	6,2
Imunocromatográfico-rK39	0	0
RIFI	1	2,1
PCR-ITS1	0	0
Pelo menos um teste positivo	9	18,8

GRUPO 2 – Pacientes imunossuprimidos com doenças reumáticas.

Dos 47 participantes com doença reumática, 37 (78,7%) pertenciam ao sexo feminino e a mediana de idade foi 50 anos (26 – 77). Quatro (8,9%) relataram exposição a cães com suspeita de LV.

Os diagnósticos reumatológicos de base dos participantes do estudo foram: artrite reumatóide (68,9%), lúpus eritematoso sistêmico (20%), espondilite anquilosante (8,9%), dermatomiosite (4,4%), esclerose sistêmica (2,2%) e doença mista do tecido conjuntivo (2,2%).

As drogas imunossupressoras usadas associadas ou isoladamente como tratamento pelos participantes do estudos foram: imunomoduladores (leflunomida, metotrexate, ciclosporina, azatioprina, abatacept) 77,8%, corticoides (prednisona e prednisolona) 37,8%, sulfassalazina 24,4%,

anticorpos monoclonais anti-TNF (infiximab, adalimumab, etanercept) 24,4% e antimaláricos (cloroquina e hidroxicloroquina) e 20%.

Nove dos 47 pacientes apresentaram positividade apenas no ELISA-rK39 e um paciente apresentou positividade apenas no DAT. Desses pacientes, seis usavam corticoide (prednisona e prednisolona), três usavam imunomoduladores (leflunomida e metotrexate), três usavam anticorpo monoclonal anti-TNF α (infiximab, etanercept, adalimumab) e dois usavam sulfassalazina, de maneira combinada ou isolada. As características desse grupo de pacientes está descrito na Tabela 5. A positividade observada nos testes diagnósticos no grupo de pacientes com doença reumática está resumida na tabela 6.

Tabela 05 – Características dos participantes com doenças reumatológicas em uso de drogas imunossupressoras acompanhados no Hospital Universitário de Brasília no Distrito Federal, 2014.

	Frequência	% (n=47)
Doença de base		
Artrite reumatóide	31	68,9
Lúpus eritematoso sistêmico	9	20
Espondilite anquilosante	4	8,9
Dermatomiosite	2	4,4
Esclerose sistêmica	1	2,2
Doença mista do tecido conjuntivo	1	2,2
Medicamento		
Imunomodulador	35	77,8
Corticoide	17	37,8
Sulfassalazina	11	24,4
Anti-TNF α	11	24,4
Antimalárico	9	20
Sinais e Sintomas		
Hepatomegalia	0	0
Esplenomegalia	0	0

Febre	1	2,2
Anemia	5	11,1
Linfopenia	5	11,1
Trombocitopenia	2	4,4

Tabela 06– Positividade dos testes diagnósticos para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas imunossuprimidas com doenças reumáticas acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Teste diagnóstico	Frequencia	% (n=47)
ELISA-rK39	9	19,1
DAT	1	2,1
Imunocromatográfico-rK39	0	0
RIFI	0	0
PCR-ITS1	0	0
Pelo menos um teste positivo	9	19,1

GRUPO 3 – Pacientes transplantados renais.

Dos 51 pacientes submetidos a transplante renal que participaram do estudo, 29 (56,9%) eram do sexo masculino e a mediana de idade foi 44 anos (22 – 67). Vinte e seis (51%) relataram saber o que é LV, desses, 14 (27,5%) conheciam a forma de transmissão e um participante (2%) relatou conhecer vizinhos que apresentaram a doença.

Os pacientes apresentavam condição de imunossupressão pelo uso de corticoides, inibidores da calcineurina e/ou inibidores da mTOR quinase, sendo que 47 (92,2%) estavam em uso de prednisona, 33 (64,7%) de micofenolato de mofetila, 35 (68,6%) de tacrolimus, 10 (19,6%) de

everolimus, 13 (25,5%) de sirolimus, um (2%) de ciclosporina cinco (9,8%) de azatioprina.

Observou-se positividade em cinco (9,8%) pacientes pelo método ELISA-rK39 e em um paciente (2%) pelo DAT. Todos os demais pacientes apresentaram negatividade para LV em todos os testes sorológicos e moleculares. Tabela 7.

Uma paciente foi diagnosticada com LV após ser submetida ao transplante renal no serviço do HUB. No momento da coleta de dados a paciente se encontrava em tratamento e não apresentava mais todos os sinais e sintomas da síndrome clínica suspeita de LV. Somente nessa paciente houve positividade concomitante no teste de aglutinação direta e no ELISA-rK39. Em todos os outros testes diagnósticos usados no estudo essa paciente apresentou resultado negativo.

Tabela 07 – Positividade dos testes para detecção da infecção por *Leishmania* spp. em pessoas imunossuprimidas submetidas a transplante renal acompanhadas no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2014.

Teste diagnóstico	Frequência	% (n=51)
ELISA-rK39	5	9,8
DAT	1	2,0
Imunocromatográfico-rK39	0	0
RIFI	0	0
PCR-ITS1	0	0
Pelo menos um teste positivo	5	9,8

A figura 2 mostra a distribuição dos resultados do índice de reatividade do teste ELISA-rK39 em cada grupo de estudo.

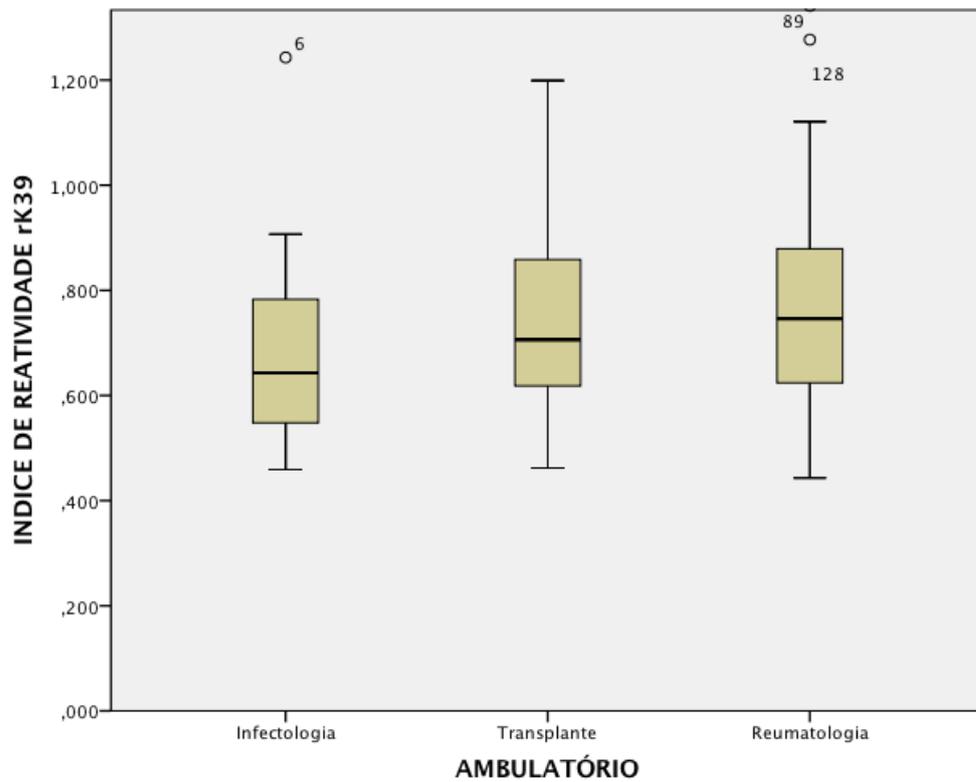


Figura 2. Distribuição dos valores do índice de reatividade no teste ELISA rK39 em pessoas vivendo com HIV/aids (infecologia), pacientes transplantados renais (transplante) e pacientes portadores de doenças reumatológicas (reumatologia) atendidos no Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal, 2014.

6. DISCUSSÃO

O Hospital Universitário de Brasília, por ser um centro de referência para tratamento de pessoas vivendo com HIV/AIDS, imunossuprimidos com doença reumática e pacientes submetidos a transplante renal, atende pacientes de todo o Distrito Federal assim como pacientes procedentes de vários estados brasileiros, onde ocorre transmissão autóctone de leishmaniose visceral. O HUB é também a referência para o tratamento de adultos com LV no Distrito Federal e esta característica permite detectar eventos de relativa raridade tais como a co-infecção *Leishmania*/HIV ou o aparecimento de reativação de infecções latentes em pacientes submetidos a imunossupressão farmacológica (CARRANZA-TAMAYO et al., 2010). Se por um lado, o cenário de uma unidade do nível terciário apresenta vantagens para a detecção de eventos relativamente raros em populações selecionadas, as estimativas pontuais da frequência desses eventos usualmente não representa exatamente a frequência do evento na população geral. A metodologia utilizada para convidar os pacientes a participar do estudo não foi aleatória, o que pode ter aumentado a probabilidade de ter ocorrido viés de seleção, já que a amostra foi selecionada por conveniência, à medida que os pacientes se apresentavam para o atendimento de rotina nos ambulatórios dos grupos estudados ou estavam internados nas suas respectivas enfermarias. Porém, as estimativas de infecção assintomática encontradas no presente estudo são válidas para a população de pacientes atendidos nos serviços nos quais realizamos o estudo no HUB e provavelmente para unidades de atenção com complexidade semelhante que cuidem de pacientes procedentes de áreas com transmissão autóctone de

LV. Permanece no entanto, a restrição do uso dos dados aqui apresentados para cenários diversos do cenário estudado. Durante o período de inclusão de participantes no estudo, foi possível abordar aproximadamente 50% dos pacientes atendidos rotineiramente nos ambulatórios especializados para os Grupos 2 e 3 e aproximadamente 25% dos pacientes candidatos a inclusão no Grupo 1.

O estudo teve um baixo grau de recusa por partes dos pacientes. A grande maioria dos pacientes dos 3 grupos já estão familiarizados com pesquisas devido ao grande número de estudos que ocorrem nesses ambulatórios e já estavam conscientes quanto a importância da pesquisa científica.

Devido à metodologia usada para a captação dos participantes não foi possível contabilizar quantos recusaram a participação no estudo após o primeiro convite. Dos que aceitaram a abordagem com o TCLE, 10 recusaram-se a participar do estudo. Sete pacientes recusaram porque já tinham participado de vários estudos e não tinham recebido o resultado de nenhum deles; dois, por medo da punção venosa; e um, por ter sido chamado para consulta médica durante a leitura do TCLE.

Estudos prévios realizados com pacientes do mesmo universo mostraram características basais semelhantes (CARRANZA-TAMAYO et al., 2010). Em relação aos pacientes vivendo com HIV/aids (Grupo 1), observou-se que em relação à distribuição por gênero a amostra assemelha-se à casuística nacional (BRASIL, 2011). Quanto a idade, houve uma diferença na comparação com a casuística nacional com mais de 40 % dos pacientes com

mais de 40 anos, já na casuística nacional essa faixa etária corresponde a menos de 30%. Já os participantes do grupo 2 e grupo 3 estão dentro da faixa etária semelhante à média nacional. A diferença observada na idade do grupo 1 em relação a media nacional provavelmente deve ter ocorrido devido ao perfil do paciente atendido no HUB, que tem longo tempo de acompanhamento no serviço com entrada reduzida de novos casos.

Uma paciente do segundo grupo não tinha 18 anos completos no momento da coleta de dados, porém, por se tratar de uma paciente com diagnóstico relativamente recente de LV aproveitou-se a oportunidade para solicitar autorização da paciente e dos seus responsáveis que aceitaram participar do estudo.

A coleta de dados retrospectivamente no prontuário também representou uma limitação pela heterogeneidade na qualidade dos registros nos prontuários e a sua organização interna o que dificultou a obtenção de alguns dados laboratoriais e alguns antecedentes patológicos e da medicação em uso. Sendo assim, algumas informações relevantes ficaram incompletas para alguns participantes.

Em alguns momentos foi identificada a dificuldade dos pacientes para informar sobre o tratamento o que pode estar refletindo o tipo e qualidade do atendimento que está sendo oferecido onde o paciente não se apropria plenamente de todo o conhecimento sobre a sua condição com a consequente perda de oportunidade para o aprimoramento do autocuidado.

No início do estudo foi idealizada a realização dos testes cutâneos PPD e Montenegro, porém, devido a dificuldades logísticas para garantir o

retorno dos pacientes para a leitura do resultado do teste a grande maioria dos pacientes recusou-se a fazer esses exames, havendo necessidade de retirar esses testes do estudo devido à baixa adesão.

A magnitude da infecção assintomática, levando em consideração a positividade em qualquer um dos testes utilizados, revela que uma parcela importante desses pacientes está vulnerável à reativação de uma infecção adquirida previamente ou a sofrer as manifestações mais graves de uma infecção primária, assim como apresentar pior prognóstico a médio e longo prazos, como no caso dos pacientes co-infectados pelo HIV.(COTA et al., 2014)

Os resultados aqui apresentados também mostram a dificuldade de diagnosticar a infecção assintomática, sendo evidente a heterogeneidade na positividade observada entre os diversos testes o que aponta para a necessidade de aprimorar a sua acurácia, explorando a possibilidade de uso em combinação para maximizar a sua sensibilidade.(GOUVÊA et al., 2008).

A maior positividade observada no teste imunoenzimático é esperada pelo menos em pacientes não co-infectados pelo HIV (MACHADO DE ASSIS et al., 2012; PEDRAS et al., 2012) No presente estudo, chama a atenção a dispersão dos resultados do índice de reatividade do teste que variou de 1,12 a 16,5. Já os resultados obtidos com o DAT revelam que o teste apresentou positividade em cinco pacientes, dentre eles, os dois pacientes que tiveram LV, foram tratados e se encontravam assintomáticos em acompanhamento. Excluindo esses pacientes que teriam um nível maior de anticorpos, o DAT detectou unicamente três pacientes durante o rastreamento, porém, esses

três pacientes apresentaram resultado negativo no ELISA-rK39. No conjunto, os resultados dos testes ELISA-rK39 e DAT demonstram que um único teste tem probabilidade de não detectar todos os indivíduos potencialmente infectados por *Leishmania*.

Apesar de ser esperada maior positividade nos testes que utilizam antígenos brutos (DAT e RIFI) quando comparada com a positividade dos testes que utilizaram o antígeno recombinado K39, o resultado foi inverso, refletindo provavelmente o impacto do método imunoenzimático em placa sobre a positividade do teste. Esta hipótese estaria apoiada pela negatividade observada com o teste imunocromatográfico em fita, que tem apresentado resultados satisfatórios em pacientes com doença ativa (CUNNINGHAM et al., 2012), que apresentou resultados negativos apesar de utilizar o mesmo antígeno recombinado do teste de ELISA. O teste de imunofluorescência se comportou como esperado, pois o seu desempenho em pacientes sem imunossupressão é inferior aos dos outros testes.(ASSIS et al., 2011).

Um dos maiores problemas na interpretação dos resultados positivos em pacientes assintomáticos reside no fato de que nenhum dos testes disponíveis tem sido validado para o diagnóstico da infecção assintomática por *Leishmania*. No caso específico da leishmaniose visceral, os testes sorológicos aplicados ainda apresentam deficiências na acurácia em pacientes sintomáticos e logicamente se esperaria que, no contexto da infecção assintomática, quando a produção de anticorpos é pequena ou nula, a acurácia sofra ainda maior deterioração.

Além desse fator dependente da ausência ou níveis baixos de anticorpos durante a infecção assintomática, enfrenta-se ainda a dificuldade de não existir um padrão-ouro contra o qual comparar o desempenho dos testes nessa situação. O modelo da tuberculose pode ser útil para tentar achar uma saída para aprimorar o diagnóstico da infecção assintomática (SOUZA et al., 2014). No entanto, o pressuposto de se contar com um nível de preservação razoável da imunidade celular para que este tipo de teste funcione constitui uma limitação para os estudos em pacientes imunodeprimidos ou submetidos a imunossupressão. O uso de reações que lançam mão da detecção de citocinas no sangue periférico total após a estimulação com antígenos solúveis de *Leishmania* poderia ser uma opção para tentar resolver o problema, no entanto, os estudos atuais investigam esse uso em pacientes com LV ativa (SANTOS et al., 2012).

Outro problema a ser levado em consideração é a especificidade dos testes sorológicos utilizados. O antígeno K39 vem demonstrando elevada especificidade independentemente do formato do teste, seja como ensaio imunoenzimático ou em plataformas imunocromatográficas. A especificidade para a infecção por *L. infantum* ou *L. donovani* em relação às outras espécies de *Leishmania* que podem circular simpatricamente nos ambientes de transmissão das espécies viscerotrópicas tem sido investigada e demonstra que a especificidade é elevada e não apresenta reações cruzadas com infecções por espécies dermatotrópicas.

Os antígenos brutos utilizados nas provas de imunofluorescência e de aglutinação direta tem demonstrado especificidade adequada em pacientes com LV ativa, no entanto, a probabilidade de encontrar falso-positivos

umenta com o uso de provas com antígenos brutos e os resultados desses dois testes devem ser interpretados com cautela, principalmente aqueles que se encontram próximos do ponto de corte. No presente trabalho, dois dos cinco pacientes com resultado positivo tiveram resultados no DAT com valores próximos do ponto de corte.

Levando em consideração as características do grupo de pacientes com doença reumática, vale a pena lembrar que pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide, dentre outras doenças reumatológicas, apresentam produção de anticorpos há muito tempo reconhecidos como causa de reações cruzadas nos testes para o diagnóstico de doenças infecciosas (SHOKRI et al., 1993). Por esse motivo, os resultados positivos observados nos nove pacientes portadores de doença reumática devem ser interpretados com cautela e esses pacientes devem ser cuidadosamente acompanhados para observar a evolução dessa positividade ao longo do tempo.

O uso da reação de Montenegro para fins de rastreamento da infecção assintomática por *L. infantum* apresenta-se como uma opção válida para pacientes que tem imunidade celular preservada. No presente estudo tinha-se a intenção de aplicar o teste em todos os pacientes com o intuito de traçar uma linha de base que permitisse estabelecer em estudos futuros a possibilidade de conversão dos testes inicialmente negativos e de detectar testes positivos principalmente em pacientes vivendo com HIV/aids em uso de tratamento anti-retroviral com contagem de linfócitos T CD4+ acima de 350 células. Infelizmente por razões operacionais em relação ao retorno dos pacientes não foi possível obter os dados esperados.

Estudos prévios que aplicaram métodos moleculares para a detecção assintomática da infecção por *Leishmania* tanto em pacientes sintomáticos sem infecção pelo HIV, quanto em pacientes co-infectados por esse vírus mostraram que esses métodos poderiam ser úteis. No entanto, a reprodutibilidade dos ensaios entre os diferentes laboratórios e possibilidade de contaminação tem sido os maiores limitantes para o seu uso mais expandido além da complexidade da infraestrutura laboratorial que exigem.

No presente estudo a tentativa de amplificar uma região conservada do rDNA (ITS1) não teve sucesso. Algumas explicações seriam plausíveis. Este alvo de amplificação não é tão abundante quanto o DNA do minicírculo que foi usado em outros estudos e talvez haveria necessidade de se utilizar a técnica “*nested*” para aprimorar a sua sensibilidade como tem sido proposto por outros autores. A intermitência na circulação de quantidade detectáveis de DNA no sangue periférico em indivíduos com infecção assintomática tem sido proposta como uma explicação para a heterogeneidade de resultados observada com os métodos moleculares e esta hipótese poderia explicar pelo menos em parte a negatividade observada no presente estudo. O uso de métodos moleculares quantitativos poderá também contribuir para aprimorar a detecção da infecção assintomática por *Leishmania*. No entanto, alguns resultados preliminares não tem sido tão promissores.

Independentemente das considerações acima, os resultados encontrados revelam que a infecção por *Leishmania* existe nos três grupos estudados, corroborando dados anteriores em relação às pessoas vivendo com HIV/aids e trazendo novo conhecimentos nos grupos de pacientes com doença reumática e transplante renal. Esses dois grupos vem recebendo

cada vez mais atenção e provavelmente se tornem progressivamente mais relevantes no contexto da LV, considerando que esta infecção é de natureza persistente e que até o momento não existem evidências que sustentem a hipótese de uma cura com a erradicação da infecção com as drogas disponíveis. A detecção oportuna da infecção por *Leishmania* por meio do rastreamento de todos os pacientes imunossuprimidos ou que serão submetidos a imunossupressão pode ter um papel crucial para diminuir a morbidade causada pela doença clinicamente manifesta evitando a piora do prognóstico nesses grupos com maior vulnerabilidade.

7. CONCLUSÕES

- A positividade global observada em pacientes imunossuprimidos ou imunodeprimidos foi de **17,2% (11,5% – 24,4%)**.
- A positividade em pelo menos um teste em pacientes vivendo com HIV-aids foi de **18,7%**.
- A positividade em pelo menos um teste em pacientes submetidos a imunossupressão para tratamento das doenças reumatológicas foi de **19,1%**.
- A positividade em pelo menos um teste em pacientes que foram submetidos a transplante renal foi de **9,8%**.
- O ELISA-rK39 apresentou maior positividade quando comparado com outros testes diagnósticos.
- A concordância bruta entre os testes utilizados foi baixa.

- Os resultados sugerem a necessidade de uso combinado de múltiplos testes para melhorar a capacidade de detecção da infecção assintomática por *Leishmania* spp. na população com déficit de imunidade.
- Nenhum dos fatores estudados foi significativamente associado com a positividade observada nos testes

8. REFERÊNCIAS

1. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Ter Horst R, López-Vélez R, Moreno J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 2008 Apr;21(2):334-59.
2. Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, Jiménez M, Laguna F, López-Vélez R, Molina R, Moreno J. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 1997 Apr;10(2):298-319.
3. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, den Boer M; WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One.* 2012;7(5):e35671.
4. Alvar J, Yactayo S, Bern C (2006) Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol* 22: 552–557. attributable to leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2: e313.
5. Alves da Silva A, Pacheco-Silva A, de Castro Cintra Sesso R, Esmeraldo RM, Costa de Oliveira CM, Fernandes PF, Oliveira RA, Silva LS, Carvalho VP, Nery Costa CH. The risk factors for and effects of visceral leishmaniasis in graft and renal transplant recipients. *Transplantation.* 2013 Mar; 15;95(5):721-7. doi: 10.1097/TP.0b013e31827c16e2.
6. Amela C, López-Gay D, Alberdi JC, Castilla J. Injecting drug use as risk factor for visceral leishmaniasis in AIDS patients. *Eur J Epidemiol.* 1996 Feb;12(1):91-2.
7. Assis TS, Braga AS, Pedras MJ, Oliveira E, Barral A, de Siqueira IC, Costa CH, Costa DL, Holanda TA, Soares VY, Biá M, Caldas Ade J,

- Romero GA, Rabello A. Multi-centric prospective evaluation of rk39 rapid test and direct agglutination test for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011 Feb;105(2):81-5.
8. Assis TS, Caligiorne RB, Romero GA, Rabello A. Detection of *Leishmania* kDNA in human serum samples for the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009 Dec;103(12):1269-72.
 9. Badaró R, Jones T, Carvalho E, Sampaio D, Reed S, Barral A, Teixeira R, Johnson Jr W. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. 1986. *J Infect Dis* 154:1003-1011.
 10. Bagalas V, Kioumis I, Argyropoulou P, Patakas D. Visceral leishmaniasis infection in a patient with rheumatoid arthritis treated with etanercept. *Clin Rheumatol* 2007;26: 1344–1345.
 11. Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Júnior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, Almeida R, Badaro R, Barral-Netto M, Carvalho EM, et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1991 May;44(5):536-46.
 12. Belo VS, Struchiner CJ, Barbosa DS, Nascimento BW, Horta MA, da Silva ES, Werneck GL. Risk Factors for Adverse Prognosis and Death in American Visceral Leishmaniasis: A Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Jul 24;8(7):e2982.
 13. Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BW, da Silva ES, Struchiner CJ. Factors associated with visceral leishmaniasis

- in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Apr 25;7(4):e2182.
14. Bern C, Maguire JH, Alvar J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. (2008) *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(10):e313. doi: 10.1371/journal.pntd.0000313.
15. Boelaert M, Verdonck K, Menten J, Sunyoto T, van Griensven J, Chappuis F, Rijal S. Rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in patients with suspected disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014;6.
16. Boucekoua M, Trabelsi S, Ben Abdallah T, Khaled S. Visceral leishmaniasis after kidney transplantation: report of a new case and a review of the literature. *Transplant Rev (Orlando)*. 2014 Jan;28(1):32-5. doi: 10.1016/j.trre.2013.10.007. Epub 2013 Oct 28
17. Boucekoua M, Trabelsi S, Ben Abdallah T, Khaled S. Visceral leishmaniasis after kidney transplantation: report of a new case and a review of the literature. *Transplant Rev (Orlando)*. 2014 Jan;28(1):32-5. doi: 10.1016/j.trre.2013.10.007.
18. Brasil. Ministério da Saúde do Brasil, DATASUS. Taxa de incidência de AIDS. Atualizado em 30 de junho de 2013. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?idb2012/d0201b.def>. Acessado em 26 de junho de 2014.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral : recomendações clínicas para redução da letalidade / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 78 p. : il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) Disponível em:

http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB4QFjAA&url=http%3A%2F%2Fbvsms.saude.gov.br%2Fbvs%2Fpublicacoes%2Fleishmaniose_visceral_reducao_letalidade.pdf&ei=F77nU8vZI_sQT77YLYDw&usg=AFQjCNFd0e8i7rSyIPRNc3sbSuPnqNbheA&sig2=JujaoEmEt7Vwp5P8NPTPoQ&bvm=bv.72676100,d.cWc. Consultado em:10 de agosto 2014.

20. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico HIV/Aids. Dezembro de 2013; ano 2:nº 1.
21. Carranza-Tamayo CO, Carvalho Mdo S, Bredt A, Bofil MI, Rodrigues RM, Silva AD, Cortez SM, Romero GA. Autochthonous visceral leishmaniasis in Brasília, Federal District, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010 Jul-Aug;43(4):396-9.
22. Carranza-Tamayo CO, de Assis TS, Neri AT, Cupolillo E, Rabello A, Romero GA. Prevalence of *Leishmania* infection in adult HIV/AIDS patients treated in a tertiary-level care center in Brasilia, Federal District, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009 Jul;103(7):743-8. doi: 10.1016/j.trstmh.2009.01.014.
23. Clemente WT, Rabello A, Faria LC, Peruhype-Magalhães V, Gomes LI, da Silva TA, Nunes RV, Iodith JB, Prottil KZ, Fernandes HR, Cortes JR, Lima SS, Lima AS, Romanelli RM. High prevalence of asymptomatic *Leishmania* spp. infection among liver transplant recipients and donors from an endemic area of Brazil. *Am J Transplant.* 2014 Jan;14(1):96-101. doi: 10.1111/ajt.12521.

24. Clemente WT, Rabello A, Faria LC, Peruhype-Magalhães V, Gomes LI, da Silva TA, Nunes RV, Iodith JB, Prottil KZ, Fernandes HR, Cortes JR, Lima SS, Lima AS, Romanelli RM. High prevalence of asymptomatic *Leishmania* spp. infection among liver transplant recipients and donors from an endemic area of Brazil. *Am J Transplant*. 2014 Jan;14(1):96-101. doi: 10.1111/ajt.12521.
25. Cota GF, de Sousa MR, de Freitas Nogueira BM, Gomes LI, Oliveira E, Assis TS, de Mendonça AL, Pinto BF, Saliba JW, Rabello A. Comparison of parasitological, serological, and molecular tests for visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a cross-sectional delayed-type study. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 Sep;89(3):570-7. doi: 10.4269/ajtmh.13-0239.
26. Cota GF, de Sousa MR, de Mendonça AL, Patrocínio A, Assunção LS, de Faria SR, Rabello A. *Leishmania*-HIV co-infection: clinical presentation and outcomes in an urban area in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Apr 17;8(4):e2816. doi: 10.1371/journal.pntd.0002816.
27. Cota GF, de Sousa MR, Fereguetti TO, Rabello A. Efficacy of anti-leishmania therapy in visceral leishmaniasis among HIV infected patients: a systematic review with indirect comparison. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 May 2;7(5):e2195. doi: 10.1371/journal.pntd.0002195.
28. Cota GF, de Sousa MR, Rabello A. Predictors of visceral leishmaniasis relapse in HIV-infected patients: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Jun;5(6):e1153. doi: 10.1371/journal.pntd.0001153.

29. Cota GF, Sousa MR, Demarqui FN, Rabello A. The diagnostic accuracy of serologic and molecular methods for detecting visceral leishmaniasis in HIV infected patients: meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(e1665).
30. Cota GF, Sousa MR, Nogueira BMF, Gomes LI, Oliveira E, Assis TS, et al. Comparison of parasitological, serological, and molecular tests for visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a cross-sectional delayed-type study. *Am J Trop Med Hyg* 2013;89:570–7.
31. Cota GF. Abordagem clínica da leishmaniose visceral entre adultos infectados pelo HIV: acurácia diagnóstica, fatores prognósticos e eficácia terapêutica. 2013. 134 f. Tese (doutorado em ciências da saúde). Centro de pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2013.
32. Cunningham J, Hasker E, Das P, El Safi S, Goto H, Mondal D, Mbuchi M, Mukhtar M, Rabello A, Rijal S, Sundar S, Wasunna M, Adams E, Menten J, Peeling R, Boelaert M; WHO/TDR Visceral Leishmaniasis Laboratory Network. A global comparative evaluation of commercial immunochromatographic rapid diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 2012 Nov 15;55(10):1312-9. doi: 10.1093/cid/cis716.
33. Dixon WG, Watson K, Lunt M, et al. British Society for Rheumatology Biologics Register. Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving antitumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum*. 2006;54:2368–2376.
34. Fabre S, Gibert C, Lechiche C, Dereure J, Jorgensen C, Sany J. Visceral leishmaniasis infection in a rheumatoid arthritis patient treated with infliximab.

Clin Exp Rheumatol 2005; 3: 891–892.

35. Fukutani KF, Figueiredo V, Celes FS, Cristal JR, Barral A, Barral-Netto M, de Oliveira CI. Serological survey of *Leishmania* infection in blood donors in Salvador, Northeastern Brazil. *BMC Infect Dis.* 2014 Jul 30;14(1):422.
36. Gama ME, Costa JM, Gomes CM, Corbet CM. Subclinical forms of American visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99:889-93.
37. Garcia-Vidal C, Rodríguez-Fernández S, Teijo'n S, et al. Risk factors for opportunistic infections in infliximab-treated patients: the importance of screening in prevention. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28:331–337.
38. Gouvêa Viana L, de Assis TS, Orsini M, da Silva AR, de Souza GF, Caligiorne R, da Silva AC, Peruhype-Magalhães V, Marciano AP, Martins-Filho OA, Rabello A. Combined diagnostic methods identify a remarkable proportion of asymptomatic *Leishmania (Leishmania) chagasi* carriers who present modulated cytokine profiles. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008 Jun;102(6):548-55.
39. Keane J, Gershon S, Wise RP, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med.* 200;345: 1098–1104.
40. Kesteman T, Yombi JC, Gigi J, et al. *Listeria* infections associated with infliximab: case reports. *Clin Rheumatol.* 2007;26:2173–2175.
41. Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005 Dec;100(8):811-27.

42. Machado de Assis TS, Costa Braga AS, Pedras MJ, et al. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 2008;17:107-16.
43. Machado de Assis TS, Rabello A, Werneck GL. Latent class analysis of diagnostic tests for visceral leishmaniasis in Brazil. *Tropical Medicine and International Health*. 2012;17:1202–07.
44. Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Publica* 2008; 24(12):2941-7.
45. Mescouto-Borges MR, Maués É, Costa DL, Pranchevicius MC, Romero GA. Congenitally transmitted visceral leishmaniasis: report of two Brazilian human cases. *Braz J Infect Dis*. 2013 Mar-Apr;17(2):263-6.
46. Michela G, Pomares C, Ferrua B, Martya P. Importance of worldwide asymptomatic carriers of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in humans. *Acta Tropica*. 2011;119:69–75.
47. Molinet FJ, Ampuero JS, Costa RD, Noronha EF, Romero GA. Specificity of the rapid rK39 antigen-based immunochromatographic test Kalazar Detect(r) in patients with cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013 May;108(3).
48. Oliveira E, Saliba SW, Saliba JW, Rabello A. Validation of a direct agglutination test prototype kit for the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2013 Apr;107(4):243-7.
49. Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento. Washington, D.C.: OPS, 2013.

50. Pedras MJ, de Gouvêa Viana L, de Oliveira EJ, Rabello A. Comparative evaluation of direct agglutination test, rK39 and soluble antigen ELISA and IFAT for the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008 Feb;102(2):172-8.
51. Postorino MC, Bellantoni M, Catalano C, Caridi G, De Rosa M, Seck S, Enia G. J. Visceral leishmaniasis reactivation in transplant patients: a minireview with report of a new case. *Nephrol.* 2011 Jul-Aug;24(4):530-4. doi: 10.5301/JN.2011.8343.
52. Romani-Costa V, Sanchez C, Moya F, Estany C. Visceral leishmaniasis related to infliximab administration. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22: 310.
53. Romero GAS, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America - A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e584.
54. Santos Marques LH, Gomes LI, da Rocha IC, da Silva TA, Oliveira E, Morais MH, Rabello A, Carneiro M. Low parasite load estimated by qPCR in a cohort of children living in urban area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(12):e1955.
55. Schönian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HD, Presber W, Jaffe CL. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003 Sep;47(1):349-58.
56. Secretaria de Vigilância em Saúde, Governo do Distrito Federal. Informativo epidemiológico das leishmanioses no DF. Janeiro de 2014;ano 6:nº1.

57. Secretaria de Vigilância em Saúde, Governo do Distrito Federal. Informativo epidemiológico das leishmanioses no DF. Abril de 2014a;ano 6:nº2.
58. Shokri F, Mageed RA, Jefferis R. A quantitative ELISA for measurement of rheumatoid factor associated cross-reactive idiotypes in serum from patients with rheumatic diseases. *Br J Rheumatol*. 1993 Oct;32(10):862-9
59. Silva MR, Stewart JM, Costa CH. Sensitivity of bone marrow aspirates in the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2005 Jun;72(6):811-4.
60. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Póvoa MM. Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous* (L) as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1982;76(6):830-2.
61. Singh OP, Sundar S. Whole blood assay and visceral leishmaniasis: Challenges and promises. *Immunobiology*. 2014Apr;219(4):323-8. doi: 10.1016/j.imbio.2014.01.005.
62. Souza JM, Evangelista Mdo S, Trajman A. Added Value of QuantiFERON TB-Gold in-Tube for Detecting Latent Tuberculosis Infection among Persons Living with HIV/AIDS. *Biomed Res Int*. 2014;2014:294963. doi: 10.1155/2014/294963.
63. Tektonidou MG, Skopouli FN. Visceral leishmaniasis in a patient with psoriatic arthritis treated with infliximab: reactivation of a latent infection? *Clin Rheumatol*. 2008;27:541–542.
64. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, et al. Granulomatous infectious diseases

- associated with tumor necrosis factor antagonists. Clin Infect Dis. 2004;38:1261–1265.
65. Weiss NL, Sadock VA, Sigal LH, Phillips M, Merryman PF, Abramson SB. False positive seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in systemic lupus erythematosus: the value of immunoblot analysis. Lupus. 1995 Apr;4(2):1317.
66. Winthrop KL. Risk and prevention of tuberculosis and other serious opportunistic infections associated with the inhibition of tumor necrosis factor. Nat Clin Pract Rheumatol. 2006;2:602– 610.
67. World Health Assembly (2007) The World Health Assembly Resolution (WHA60.13) on the “Control of Leishmaniasis”. Geneva, Switzerland. 5 p. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease.
68. World Health Organization (2010) Control of the leishmaniases. World Health Organ Tech Rep Ser 949: 186.

Apêndice 1 - TCLE



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – FACULDADE DE MEDICINA

Núcleo de Medicina Tropical

Título: “Infecção por *Leishmania* spp. em pacientes imunodeprimidos ou imunossuprimidos no Hospital Universitário de Brasília”

Investigadores principais: Prof. Gustavo Adolfo Sierra Romero e Dr. Leandro Machado Correa

Patrocinador: Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado para participar de um estudo que vai tentar saber a quantidade de pessoas que possuem infecção pelo parasito que causa a Leishmaniose Visceral, mas que não estão sentindo nem apresentando os sinais dessa doença. Os exames que serão realizados são recomendados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral, conhecida com Calazar e também das outras doenças parecidas com a leishmaniose.

A sua participação será voluntária e se você concordar em participar no estudo, será preenchida uma ficha individual onde registraremos os dados sobre a sua doença e serão feitos os exames. Para os exames serão coletados 8 (oito) mililitros de sangue, essa quantidade é mais ou menos a quantidade de meia colher das de sopa. Os exames que serão realizados com seu sangue tentarão detectar os sinais de defesa que estão presentes quando a pessoa entra em contato com o parasito causador da Leishmaniose Visceral, como também partes do próprio parasito.

Realizaremos com você mais dois exames que não tem como ser feitos com seu sangue, pois, eles tentam saber se as células do seu organismo reagem contra o parasito da leishmaniose e também da tuberculose ao qual você seria submetido dentro dos seus exames de rotina para a doença pela qual vem sendo acompanhado no Hospital Universitário de Brasília. Estes exames são aplicados injetando com uma seringa e agulhas muito finas fragmentos ou substâncias que compõem esses micróbios e que não podem mais causar a infecção, porém, o corpo pode reconhecer esses componentes dos micróbios e isso se refletir em uma pequena inflamação na pele que podemos medir com uma régua. Esse teste será aplicado num dia de consulta e a leitura do resultado será realizada 72 horas após a aplicação. Você devera voltar ambulatorio para fazer a leitura do teste e tomar conhecimento do resultado do exame.

Como participante do estudo você terá o benefício de ficar sabendo se já foi infectado pelo parasito da leishmaniose o que poderá melhorar a qualidade do atendimento que recebe no Hospital Universitário de Brasília e também essa informação pode ser muito útil se por acaso você desenvolve sintomas parecidos com a leishmaniose visceral, pois, o tratamento rápido é muito importante para evitar complicações. Você ou a sua família não obterão quaisquer benefícios além dos já mencionados e aqueles recebidos no acompanhamento que realizam no Hospital Universitário de Brasília, que são: diagnóstico e tratamento específico para a sua infecção ou doença e acompanhamento pelos especialistas do Núcleo de Medicina

Tropical. No entanto, a sua participação será muito importante, pois você estará contribuindo para o conhecimento da magnitude da infecção assintomática de leishmaniose no Distrito Federal, podendo desta forma beneficiar outras pessoas. Mesmo não concordando em participar do estudo, você terá a mesma assistência que os pacientes que participem da pesquisa e o seu tratamento no Hospital Universitário de Brasília.

Como participante do estudo você tem o direito de se retirar deste estudo a qualquer momento, sem qualquer retaliação, e também o direito de manter em seu poder cópia assinada deste documento.

No caso em que ocorra algum prejuízo decorrente de sua participação neste estudo você terá direito a indenizações, pagamentos ou ressarcimento de gastos. O ressarcimento de gastos é a compensação financeira, exclusivamente de despesas devido a sua participação na pesquisa, inclusive de seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação. A indenização é a compensação dirigida a anular ou reduzir um dano, originado por decorrência de sua participação no estudo. O presente estudo não contempla a contratação de seguro para indenização de participantes da pesquisa, no entanto, o seu direito a indenização lhe é garantido por lei e a instituição se compromete a lhe oferecer todos os meios nela disponíveis para corrigir os problemas que possam aparecer.

Como sujeito da pesquisa terá acompanhamento pelo pesquisador responsável através das consultas médicas agendadas periodicamente e também direito a assistência médica e/ou aos recursos disponíveis no Hospital Universitário de Brasília, local e Instituição onde será realizada a pesquisa, caso haja alguma necessidade relacionada a procedimentos realizados em virtude da mesma.

As amostras de sangue se destina à pesquisa descrita acima, porém, solicitamos a sua autorização para que o material excedente, devidamente protegido por um código para evitar que você seja identificado, seja armazenada em lugar específico chamado de biobanco, no Núcleo de Medicina Tropical, sob a guarda e responsabilidade do pesquisador. As amostras que ficarão guardadas poderão ser utilizadas para novos estudos que permitam melhorar o diagnóstico da leishmaniose ou entender melhor como a doença se comporta nas pessoas.

No caso em que haja necessidade de utilizar o material armazenado você pode autorizar seu uso neste termo de consentimento de duas formas: conceder ao pesquisador o uso desse material sem precisar de nova autorização ou ser contatado novamente para dar autorização a uma nova pesquisa. Você indicará o que você prefere no final do presente termo. A qualquer momento você tem o direito de pedir esse material excedente de volta, ou retirar seu consentimento para seu uso, quando bem quiser. Você será comunicado caso esse material excedente, que vai ficar estocado sob a guarda do pesquisador, venha a ser descartado ou perdido.

O projeto poderá ser encerrado caso ocorram efeitos adversos além dos esperados e que posam prejudicá-lo.

Os pesquisadores responsáveis pela pesquisa garantem que a sua identidade permanecerá sempre em sigilo (ou seja, não será revelada), assim como os dados que permitam de algum modo sua identificação, estes dados serão desvinculados, ou seja tornados anônimos, de forma a não se saber quem é o participante, antes de serem compartilhados com outras pessoas. A instituição patrocinadora, ou seja, o Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília assegura que isso

acontecerá de acordo com as normas legais nacionais ou internacionais. Os resultados do estudo serão apresentados em eventos de divulgação científica como congressos e revistas científicas, mas, em momento algum sua identidade será revelada.

A sua participação neste estudo será confidencial e os registros ou resultados dos testes relacionados ao estudo serão mostrados apenas aos participantes e aos representantes do Núcleo de Medicina Tropical, bem como a autoridades normativas estaduais ou nacionais, com o objetivo de garantir informações de pesquisas clínicas ou para fins normativos.

Você e seus familiares têm direitos aos esclarecimentos que julgarem necessários a qualquer período do desenvolvimento deste estudo e serão notificados sobre qualquer nova informação relacionada. Os doutores Gustavo Romero e Leandro Machado, cujos números de telefone são: 61-99678659, 61-31071843 e 61-81454321 se dispõem a atender e esclarecer possíveis dúvidas dos participantes.

Sendo assim, por estar devidamente esclarecido sobre o conteúdo deste termo, livremente você expressa seu consentimento e/ou do seu responsável para ser incluído como participante nesta pesquisa. Ainda, você:

_____ (marque com um X) Aceita que o material biológico seja armazenado para outros objetivos de pesquisa e não há necessidade de novo contato para consentir sobre futuras pesquisas.

_____ (marque com um X) Aceito que o material biológico seja armazenado para outros objetivos de pesquisa, mas desejo ser contatado para assinar novo termo de consentimento quando o material for reutilizado.

_____ (marque com um X) Não Aceito que o material biológico seja armazenado para outros objetivos de pesquisa.

E necessário que você e/ou seu responsável também assinem cada página desse termo caso aceite ser incluído na pesquisa. Essas páginas também devem estar assinadas pelo pesquisador responsável da pesquisa.

Nome do voluntário: _____ Idade _____

Nome do responsável: _____ Idade _____
(quando pertinente)

Assinatura do paciente ou responsável : _____

Data _____

Testemunha _____

Data _____

Impressão dactiloscópica
(quando o voluntário não souber escrever) _____

Versão 1.1. – 07 de maio de 2013.

Apêndice 2 – Questionário

Ficha N°

Registro:

Data de coleta de dados: ___/___/___

Ambulatório _____

1. DADOS PESSOAIS

Paciente: _____

Idade _____

Data de nascimento: ___/___/___

Local de nascimento: _____ UF: ___

Sexo: Masculino Feminino

Estado civil: Solteiro Casado Separado/ divorciado
Viúvo União Estável

Filhos: Sim Não Quantos? _____

Você se considera de qual cor/ etnia? Branca Amarela Preta
Parda Indígena

Ocupação: _____

Total de pessoas na residência _____

Qual o seu nível de instrução?

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Sem escolaridade | <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental (1º grau) incompleto |
| <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental (1º grau) completo | <input type="checkbox"/> Ensino Médio (2º grau) incompleto |
| <input type="checkbox"/> Ensino Médio (2º grau) completo | <input type="checkbox"/> Superior incompleto |
| <input type="checkbox"/> Superior completo | <input type="checkbox"/> Mestrado ou doutorado |
| <input type="checkbox"/> Não sei informar | |

Qual o nível de instrução da sua mãe?

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Sem escolaridade | <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental (1º grau) incompleto |
| <input type="checkbox"/> Ensino Fundamental (1º grau) completo | <input type="checkbox"/> Ensino Médio (2º grau) incompleto |
| <input type="checkbox"/> Ensino Médio (2º grau) completo | <input type="checkbox"/> Superior incompleto |
| <input type="checkbox"/> Superior completo | <input type="checkbox"/> Mestrado ou doutorado |
| <input type="checkbox"/> Não sei informar | |

Qual a renda total da sua família?

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Até R\$260,00 | <input type="checkbox"/> De R\$ 261,00 a R\$ 780,00 |
| <input type="checkbox"/> De R\$ 781,00 a R\$ 1.300,00 | <input type="checkbox"/> De R\$ 1.301,00 a R\$ 1.820,00 |
| <input type="checkbox"/> De R\$ 1.821,00 a R\$ 2.600,00 | <input type="checkbox"/> De R\$ 2.601,00 a R\$ 3.900,00 |
| <input type="checkbox"/> De R\$ 3.901,00 a R\$ 5.200,00 | <input type="checkbox"/> De R\$ 5.201,00 a R\$ 6.500,00 |
| <input type="checkbox"/> De R\$ 6.501,00 a R\$ 7.800,00 | <input type="checkbox"/> Mais de R\$ 7.800,00 |

Recebe auxílio governamental? Sim Não Qual?

Residência atual: _____ UF: _____
Quanto tempo? _____ dias meses anos

Residências anteriores (as três últimas)

1. _____ UF: _____
Quanto tempo? _____ dias meses anos

2. _____ UF: _____
Quanto tempo? _____ dias meses anos

3. _____ UF: _____
Quanto tempo? _____ dias meses anos

2. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

Conhece a doença Leishmaniose visceral? Sim Não

Conhece a transmissão da Leishmaniose? Sim Não

Convive com cães doentes? Sim Não
Quando? _____

Convive com familiares com Leishmaniose visceral? Sim Não
Quando? _____

Convive com vizinhos com Leishmaniose visceral? Sim Não
Quando? _____

3. ANTECEDENTES PESSOAIS

Etilismo Há quantos anos? _____

Ex-etilismo Parou há quanto tempo? _____

Gestação (G__P__C__A__) Última gestação há quantos anos? _____

Uso de drogas injetáveis Há quanto tempo? _____

4. ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Pressão Alta Há quanto tempo? _____

Diabetes Há quanto tempo? _____

Transfusão sanguínea Há quanto tempo? _____

Depressão Há quanto tempo? _____

Ansiedade Há quanto tempo? _____

- Cirurgia Qual? _____ Há quanto tempo? _____
- Doenças reumatológicas Qual? _____ Há quanto tempo? _____
- Câncer Qual? _____ Há quanto tempo? _____
- Doenças da tireóide Qual? _____ Há quanto tempo? _____
- Doenças pulmonares Qual? _____ Há quanto tempo? _____
- Alergia A quê? _____ Há quanto tempo? _____
- Doenças do coração Qual? _____ Há quanto tempo? _____

DOENÇAS INFECCIOSAS:

- Doença de Chagas † Há quanto tempo? _____
- Toxoplasmose † Há quanto tempo? _____
- Tuberculose † Há quanto tempo? _____
- Malária † Há quanto tempo? _____
- Leishmaniose tegumentar Há quanto tempo? _____
- Leishmaniose visceral Há quanto tempo? _____
- Hepatite B Há quanto tempo? _____
- Hepatite C Há quanto tempo? _____
- HIV/AIDS** **Há quanto tempo?** _____
- Outras Qual? _____ Há quanto tempo? _____

DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

- Artrite Reumatoide Há quanto tempo? _____
- Lúpus Eritematoso Sistêmico Há quanto tempo? _____
- Vasculite Há quanto tempo? _____
- Gota Há quanto tempo? _____
- Osteoartrite Há quanto tempo? _____
- Esclerose Sistêmica Há quanto tempo? _____
- Doença Mista do Tecido Conjuntivo Há quanto tempo? _____

Fibromialgia Há quanto tempo? _____

Outras Qual? _____ Há quanto tempo? _____

DOENÇAS RENAIIS

Qual? _____ Há quanto tempo? _____

Transplantado? Sim Não Há quanto tempo? _____

Complicações? Sim Não Quais? _____

Rejeição? Aguda Crônica Ausente
 Outras _____

5. MEDICAÇÃO EM USO

(reumatologia)

1. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
2. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
3. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
4. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
5. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
6. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
7. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
8. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
9. _____	Dose _____	Tempo de uso _____

(transplante)

Imunossuppressores e outros medicamentos

Terapia de indução

1. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
2. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
3. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
4. _____	Dose _____	Tempo de uso _____

Terapia de manutenção (transplantados)

1. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
2. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
3. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
4. _____	Dose _____	Tempo de uso _____

Outros

1. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
2. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
3. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
4. _____	Dose _____	Tempo de uso _____

Tratamento para rejeição

1. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
2. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
3. _____	Dose _____	Tempo de uso _____
4. _____	Dose _____	Tempo de uso _____

(HIV/AIDS)

- Abacavir – ABC
- Amprenavir – APV
- Atazanavir – ATV
- Darunavir – DRV
- Didanosina – ddl
- Efavirenz – EFZ
- Enfuvirtida – T-20
- Estavudina – d4T
- Etravirina – ETR
- Fosamprenavir – FPV
- Indinavir – IDV
- Lamivudina – 3TC
- Lopinavir + ritonavir – LPV/r
- Nevirapina – NVP
- Raltegravir – RAL
- Ritonavir – RTV
- Saquinavir – SQV
- Tenofovir – TDF
- Tipranavir (TPV)
- Zidovudina+Lamivudina – AZT + 3TC
- Zidovudina - AZT

- | | | |
|----------|------------|--------------------|
| 1. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 2. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 3. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 4. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 5. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 6. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 7. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 8. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |
| 9. _____ | Dose _____ | Tempo de uso _____ |

Orientação sexual: Heterossexual Homossexual Bissexual

6. EXAMES COMPLEMENTARES

Hemoglobina _____ data ____/____/____

Hematócrito _____ data ____/____/____

Linfócitos _____ data ____/____/____

Eosinófilos _____ data ____/____/____

Plaquetas _____ data ____/____/____

Albumina _____ data ____/____/____

Globulina _____ data ____/____/____

PPD _____ data ____/____/____

Montenegro _____ data ____/____/____

CD4 _____ data ____/____/____

Carga Viral _____ data ____/____/____

	Imunofluorescência	ELISA	Teste rápido	Monte negro	PCR	PPD
Data						
Resultado						
Interpretação						
Conclusão diagnóstica						

7. DADOS CLÍNICOS

PESO: _____ Kg
ALTURA: _____ m
FC: _____ BPM
FR: _____ irpm
PA: _____ X _____ mmHg

	Sim	Não	Data de Início	Observações
Febre > 2 sem				
Hepatomegalia				Medida em cm:
Esplenomegalia				Medida em cm:
Tosse				
Diarréia				
Emagrecimento				
Icterícia				
Edema				
Palidez				
Outros				
Lesão de pele				Local: Nº: