

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PATRICIA SHU KURIZKY

**DETECÇÃO DO DNA DE *LEISHMANIA* EM PACIENTES COM PSORÍASE E/OU
ARTRITE PSORIÁSICA EM USO DE IMUNOSSUPRESSORES**

BRASÍLIA

2019

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

PATRICIA SHU KURIZKY

**DETECÇÃO DO DNA DE *LEISHMANIA* EM PACIENTES COM PSORÍASE E/OU
ARTRITE PSORIÁSICA EM USO DE IMUNOSSUPRESSORES**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Ciências Médicas ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Licia Maria Henrique da Mota

BRASÍLIA

2019

K96d Shu Kurizky, Patricia
Detecção do DNA de Leishmania em pacientes com psoríase
e/ou artrite psoriásica em uso de imunossupressores /
Patricia Shu Kurizky; orientador Licia Maria Henrique da
Mota. -- Brasília, 2019.
146 p.

Tese (Doutorado - Doutorado em Ciências Médicas) --
Universidade de Brasília, 2019.

1. Leishmaniose. 2. Psoríase. 3. Artrite psoriásica. 4.
imunossupressão. 5. imunobiológicos. I. Henrique da Mota,
Licia Maria, orient. II. Título.

PATRICIA SHU KURIZKY

**DETECÇÃO DO DNA DE *LEISHMANIA* EM PACIENTES COM PSORÍASE E/OU
ARTRITE PSORIÁSICA EM USO DE IMUNOSSUPRESSORES**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor em Ciências
Médicas ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Aprovada em 29 de agosto de 2019

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Licia Maria Henrique da Mota – (Presidente)

Professora orientadora do programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de
Medicina da Universidade de Brasília

Prof. Dr. Leopoldo Luiz Santos-Neto

Professor orientador do programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de
Medicina da Universidade de Brasília

Prof. Dr. Ricardo Romiti

Professor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Renata Ferreira Magalhães

Professora da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas

Profa. Dra. Mariana Carvalho Costa - (Suplente)

Professora do Centro Universitário de Brasília

Prefácio

Os primeiros registros da leishmaniose encontram-se em peças de cerâmica da era pré-colombiana ou *huacos* peruanos, descobertos em 1895. Eles mostram reproduções humanas de figuras sadias e mutiladas por diferentes moléstias, que sugerem a ocorrência da uta e espúndia, denominações locais para as formas cutânea e mucosa, respectivamente, da leishmaniose, entre os incas.

A ilustração de doenças em peças artísticas data dos primórdios e mostra que a história da arte pode ser útil para o estudo da ciência e da medicina. Além de mostrar os registros iniciais de moléstias que existem há centenas de anos, a arte também é um recurso educacional para o público geral e geralmente demonstra o ponto de vista da sociedade sobre essas doenças.

As infecções são temas frequentes dos artistas. A sífilis, por exemplo, é a DST mais representada através da história da arte. Por volta de 1470, a associação da sífilis com a atividade sexual se tornou mais clara, e muitas representações artísticas vinham imbuídas de um distinto senso de julgamento moral. Isso pode ser visto em uma obra de 1469, de Sebastian Brandt, que mostra a Virgem Maria e Cristo punindo os infectados através de flechas. Aqueles infectados com sífilis, marcados pelas feridas em suas peles, são tratados como pecadores, sinalizando um aviso que a doença era relacionada ao sexo. No Início do século 17, a epidemia europeia de sífilis diminuiu, diminuindo também suas representações artísticas. Uma notável exceção é o famoso quadro de Rembrandt, “Retrato de Gérard de Lairesse” (1656), pintor holandês que sofria de sífilis congênita, e no qual é retratado com a ponte nasal achatada. Importante destacar também a conexão entre a sífilis e a estigmatização da sexualidade feminina. Nos séculos 18 e 19, as representações da sífilis estavam geralmente associadas à perigosa sexualidade feminina, especialmente às profissionais do sexo. O pintor impressionista Edgar Degas, por exemplo, uma vez se referiu às obras de Toulouse Lautrec sobre prostitutas, como “tanques de sífilis”. De forma semelhante, a pintura de Richard Tennant Cooper, “Sífilis” mostra a doença, representada por uma criatura de aparência maligna sobrenatural, trazida ao quarto de um homem por uma mulher nua. Dessa forma, podemos ver como as atitudes julgadoras contra a sexualidade feminina foram relacionadas à doença pela sociedade da época.

A tuberculose constitui outro exemplo de infecção, que influenciou o comportamento daqueles a quem atingiu. A idealização da doença propiciou sua aceitação, bem como o embelezamento do lado triste e repugnante a ela associado, enquanto seus sintomas foram cantados em verso e prosa. A tuberculose, no século passado, foi uma doença da paixão, ceifando a vida de literatos, poetas, músicos, filósofos e mundanas célebres. Já na virada do século XX, passou a ser considerada um mal social e sua ocorrência passa a ser associada as condições de vida. No detalhe de “A primavera” de Sandro Boticelli, a modelo coberta por flores é Simoneta Vesúcio, célebre tísica, musa do pintor e amante de Juliano de Médici. A seu lado, uma ninfa em vestes diáfanas, verte flores negras pela boca, representando a hemoptise, referência clássica da tradição renascentista.

Na década de 20, a iconografia foi amplamente utilizada no sentido de campanha, voltada para a educação do povo na profilaxia de doenças. As imagens geralmente mostram um momento de transição entre o mórbido sensualismo predominante no passado e a visão social da tuberculose que prevaleceria por todo o século XX.

As doenças moldaram a maneira de Edvard Munch (1863-1944) ver o mundo e, obviamente, influenciaram a evolução artística do pintor, nascido em Oslo, Noruega. A tuberculose pulmonar que matou sua mãe e posteriormente sua irmã Sophie, em 1877, teve um impacto marcante e a expressão artística de seu sofrimento deu-se por meio de uma tela intitulada “A criança doente” (1886). O travesseiro no quadro de Munch, propositadamente branco, forma uma moldura em torno da cabeça de Sophie, lembrando um quadrilátero de pureza. Em 1893, ele pinta seu mais famoso quadro, “O grito”, que reflete o sofrimento mental pelo qual estava passando em consequência de sua vida marcada pelas doenças. Entre 1897-1899, sua pintura “A herança” retrata uma mãe com uma criança com sífilis congênita em seu colo. A pintura baseada em sua experiência em salas de esperas hospitalares, mostra a criança com uma erupção eritematosa em seu peito e o corpo deformado. Em 1919, convalescente da gripe espanhola, Munch decide registrar aquele momento pintando “O auto-retrato depois da gripe espanhola”, no qual é visível a semelhança com a fisionomia retratada em “O grito”.

A psoríase, inicialmente confundida com a lepra, aparece em registros da Idade Média como punições divinas, e os pacientes declarados pela Igreja como oficialmente mortos e determinados ao isolamento social, são retratados carregando sinos para avisar as pessoas saudáveis de sua presença. Esse agrupamento indiscriminado de doenças cutâneas pode ter sido a origem da estigmatização dos pacientes com essa doença autoimune.

Finalmente, ela também é um exemplo de como a arte pode ser educativa. Em 2016, a campanha “Life’s an itch” reuniu artistas do Reino Unido para ilustrar o que seria viver com a doença. Uma das obras apresentadas foi a escultura “Built from scratch” de Michelle Castles. Inspirada em palavras que os portadores da doença forneceram para descrever o prurido em suas vidas, a artista tenta passar a sensação de tormento e desconforto para ajudar os profissionais de saúde a entenderem melhor seus pacientes.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Licia Maria Henrique da Mota, por me abrir as portas da Universidade de Brasília, orientando-me tanto no mestrado quanto no doutorado, sempre atenciosa e disponível, mesmo com a agenda atribulada. Agradeço imensamente todo o incentivo e exemplo, que têm contribuído imensamente para meu crescimento científico e pessoal.

Ao Prof. Ciro Gomes Martins, por me abrir as portas do Laboratório de Dermatologicologia e me apresentar o universo da bancada. Agradeço imensamente os ensinamentos, as oportunidades e a generosidade de me coorientar.

À Dra. Gladys Aires Martins, por me abrir as portas do Ambulatório de Psoríase e pelo exemplo de profissional e humanidade, que tanto me ensina dia após dia não apenas sobre psoríase, mas também sobre como ser uma melhor médica e dermatologista.

A todos os voluntários, funcionários e pacientes do Hospital Universitário de Brasília por me ajudarem e aceitarem participar da pesquisa.

Aos residentes do serviço de Dermatologia do HUB, que me auxiliaram na coleta dos dados.

Aos meus pais, Lena e Konstantin Kurizky, por sempre acreditarem e me incentivarem a seguir adiante.

A minha irmã, Luisa Shu Kurizky, sempre presente mesmo à distância, agradeço à amizade e o carinho.

Ao meu marido Ricardo Augusto Dantas Silva e minha pequena Mariah, agradeço todo o amor, apoio e compreensão ao longo do período de elaboração desta tese.

RESUMO

Fundamentos: As drogas imunobiológicas revolucionaram o tratamento da psoríase e da artrite psoriásica, entretanto trouxeram o risco do desenvolvimento e reativação de doenças infecciosas, antes controladas pela resposta imune do hospedeiro, como a leishmaniose.

Objetivo: Nosso objetivo foi avaliar o risco de leishmaniose em pacientes com psoríase e artrite psoriásica, residentes em região endêmica para a infecção, através de avaliação clínica e complementar.

Pacientes e Métodos: Foi realizado um estudo transversal, onde foram incluídos consecutivamente pacientes atendidos no Ambulatório de Psoríase e de Artrite Psoriásica. Os pacientes foram submetidos a coleta de sangue por venopunção para avaliação de sorologia (imunofluorescência indireta – IFI), reação em cadeia da polimerase convencional (PCR) e PCR em tempo real (RPCR), ambos para kDNA de *Leishmania*.

Resultados: Trezentos e onze pacientes foram incluídos, 96 estavam em uso de imunobiológicos (25 em uso de infliximabe, 24 em uso de adalimumabe, 29 em uso de etanercepte, 10 em uso de ustequinumabe e 8 em uso de secuquinumabe), 94 em uso de imunossuppressores convencionais (metotrexato), 69 em tratamentos não imunossuppressores sistêmicos (8 sem tratamento, 50 em uso de tópicos, 6 em uso de acitretina, 5 em fototerapia UVB) e 52 controles imunocompetentes (sem doença autoimune e sem uso de medicação imunossupressora). Nenhum paciente apresentou quadro de leishmaniose ativa. Sete pacientes mostraram sorologia positiva, 13 apresentaram PCR convencional positiva e 9 RPCR positiva. História de contato com leishmaniose canina foi uma variável que influenciou significativamente a ocorrência da positividade de pelo menos um dos exames de rastreamento (razão de prevalência ajustada = 4,09; intervalo de confiança de 95%: 1,13-14,76). O uso de imunossuppressores não foi uma variável significativa.

Conclusão: Embora o estado imunológico seja crítico para o controle da leishmaniose, fatores socioambientais parecem mais importantes para o desenvolvimento da doença, e o controle de vetores é imperativo para os pacientes durante a imunossupressão. Apesar disso, estudo prospectivo com acompanhamento desses pacientes é necessário para avaliar o risco de reativação da leishmaniose.

Palavras-chave: Leishmaniose; Psoríase; Artrite Psoriásica; Imunossupressão; Reação em Cadeia da Polimerase.

ABSTRACT

Background: Immunobiological drugs improved the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis. Leishmaniasis control is highly dependent of the involved proinflammatory response.

Objective: We aimed to assess the risk of leishmaniasis by clinical and complementary evaluation in psoriasis and psoriatic arthritis patients living in an endemic region.

Patients and Methods: We conducted a cross-sectional screening study and consecutively included patients attending Psoriasis Ambulatory. Patients were tested for serology, conventional polymerase chain reaction (PCR), and real-time PCR (RPCR), both targeting the minicircle kDNA of *Leishmania*.

Results: Three hundred and eleven patients were included, 96 using immunobiologics (25 using infliximab, 24 adalimumab, 29 etanercept, 10 ustekinumab e 8 sekuquinumab), 94 using conventional immunosuppressors (methotrexate), 69 under non-immunosuppressive treatments (8 non-treated, 50 using topical treatment, 6 using acitretine and 5 under UVB phototherapy) and 52 controls without psoriasis. No active leishmaniasis was diagnosed. Seven patients tested positive for serology, 13 for conventional PCR and 9 for RPCR. Contact history with canine leishmaniasis significantly influenced the occurrence of at least one positive exam (adjusted prevalence ratio = 4.09; 95% confidence interval: 1.13-14.76). The use of immunosuppressors was not a significant variable.

Conclusion: Although immunological status is critical for leishmaniasis control, socioenvironmental factors seem more important for disease development and vector control is imperative for patients during immunosuppression. Only prospective follow-up of those patients will assess the leishmaniasis reactivation risk.

Keywords: Leishmaniasis; Psoriasis; Psoriatic Arthritis; Immunosuppression; Polymerase Chain Reaction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Fluxograma de Tratamento da Psoríase moderada a grave do Consenso Brasileiro de Psoríase - pg 28**
- Figura 2: Algoritmo do EULAR para tratamento da Artrite Psoriásica - pg 29**
- Figura 3: Áreas com maior concentração de casos de leishmaniose visceral no mundo - pg 37**
- Figura 4: Taxonomia da *Leishmania* – pg 38**
- Figura 5: Ciclo da *Leishmania* e principais citocinas envolvidas em sua patogênese – pg 43**
- Figura 6: Diagnóstico da leishmaniose tegumentar disseminada – pg 45**
- Figura 7: Teste de Montenegro – pg 45**
- Figura 8: Anatomopatológico da leishmaniose – pg 47**
- Figura 9: Reação em cadeia da polimerase convencional – pg 66**
- Figura 10: Reação em cadeia da polimerase em tempo real – pg 67**
- Figura 11: Modelo de Regressão – pg 71**
- Figura 12: Distribuição de pacientes com sobrepeso e obesidade, por grupos – pg 78**
- Figura 13: Presença de comorbidades em percentual, por grupos – pg 82**
- Figura 14: Dados epidemiológicos de risco para leishmaniose, por grupos – pg 84**
- Figura 15: Fluxograma com distribuição por grupos de tratamento e resultados de exames – pg 86**
- Figura 16: Imagens ultrassonográficas da hepatimetria e mensuração de baço nos pacientes com exames positivos – pg 100**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas dos pacientes incluídos – pg 87

Tabela 2 – Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com pelo menos 1 exame positivo – pg 89

Tabela 3 – Prevalência de exame positivo, conforme variáveis estudadas – pg 93

Tabela 4 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalência bruta e ajustada, conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta por níveis hierárquicos e seus respectivos intervalos de 95% de confiança – pg 96

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE – Antinflamatório não esteroidal

Alfa1GPA – alfa-1-glicoproteína

APC – Células apresentadoras de antígeno

BSA – *Body Surface Area* (Acometimento de superfície corporal)

CASPAR – *Classification criteria for psoriatic arthritis* (Critérios Classificatórios para Artrite Psoriásica)

CPDAI – *Composite Psoriatic Disease Activity Index* (instrument de avaliação para artrite psoriásica)

DF – Distrito Federal

DLQI – *Dermatology Life Quality Index* (Índice de Qualidade de Vida Dermatológico)

DM – *Diabete mellitus*

DP – Desvio padrão

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*

EUA – Estados Unidos da América

EULAR – *European League Against Rheumatism*

FM – Faculdade de Medicina

GRAPPA – *Group for research and assessment of psoriasis and psoriatic arthritis* (Grupo de pesquisa e abordagem da psoríase e da artrite psoriásica)

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

HBV – Hepatite B

HCV – Hepatite C

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

HUB – Hospital Universitário de Brasília

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Intervalo de confiança

IFI - Imunofluorescência indireta

IFN – Interferon

IGRA – *Interferon gamma release assay*

IL- Interleucina

IMC – Índice de massa corpórea

kDNA – DNA mitocondrial do cinetoplasto de *Leishmania*

LTA – Leishmaniose tegumentar americana

LV – Leishmaniose visceral

Meio NNN – Neal, Novy, Nicolle

MTX – Metotrexato

NAPSI – *Nail psoriasis and severity index* (Índice da Gravidade Ungueal da Psoríase)

NK – *Natural killers*

nUVB – ultravioleta de banda estreita

OMERACT – *Outcome measures in rheumatology clinical trials* (Rede Internacional para Estabelecimento de Medidas nos Ensaio Clínicos Reumatológicos)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PASI – *Psoriasis area and severity index* (Índice de Gravidade da Área de Psoríase)

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PPD – Teste tuberculínico

RFLP – *Restriction-fragment length* (PCR com digestão pela enzima HAEIII para determinação da espécie de *Leishmania*)

RPCR – Reação em cadeia da polimerase em tempo real

RR – Risco relativo

SES – Secretaria do Estado de Saúde

TAD – Teste de aglutinação direta

TB – Tuberculose

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

TNF – Fator de necrose tumoral

UnB – Universidade de Brasília

UVA – ultravioleta A

UVB – ultravioleta B

VHS – Velocidade de hemossedimentação sanguínea

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Revisão da Literatura	20
1.1.1 Psoríase.....	20
1.1.1.1 Conceito	20
1.1.1.2 Epidemiologia	20
1.1.1.3 Quadro Clínico	21
1.1.2 Artrite Psoriásica.....	24
1.1.2.1 Conceito	24
1.1.2.2 Epidemiologia	24
1.1.2.3 Quadro Clínico	25
1.1.3 Tratamento	27
1.1.3.1 Tratamentos não imunossupressores.....	30
1.1.3.2 Tratamentos imunossupressores convencionais.....	31
1.1.3.3 Tratamentos imunossupressores imunobiológicos	32
1.1.4 Imunossupressores e infecções	33
1.1.5 Leishmaniose	36
1.1.5.1 Conceito	36
1.1.5.2 Epidemiologia	36
1.1.5.3 Patogênese	39
1.1.5.4 Diagnóstico	44
1.1.6 Leishmaniose e Imunossupressão	49
2 JUSTIFICATIVA	51
2 JUSTIFICATIVA	52
3 OBJETIVOS	53
3 OBJETIVOS	54
3.1 Objetivo primário.....	54

3.2 Objetivos secundários	54
4 PACIENTES E MÉTODOS	55
4 PACIENTES E MÉTODOS	56
4.1 Tipo de estudo	56
4.2 Duração do Estudo	56
4.3 População estudada.....	56
4.4 Critérios de inclusão.....	57
4.5 Critérios de exclusão	57
4.6 Avaliação dos pacientes	58
4.6.1 Características gerais	58
4.6.1.1 Idade	58
4.6.1.2 Gênero	59
4.6.1.3 Etnia	59
4.6.1.4 Residência	59
4.6.1.5 Naturalidade e procedência.....	59
4.6.2 Avaliação clínica.....	60
4.6.2.1 Dados da história clínica e exame físico.....	60
4.6.2.4 Avaliação reumatológica.....	63
4.6.3 Avaliação do risco de leishmaniose	64
4.7 Extração de DNA	64
4.8 PCR convencional para <i>Leishmania</i>	65
4.9 PCR em tempo real para <i>Leishmania</i>	66
4.10 Imunofluorescência Indireta	68
4.11 Tamanho da amostra	68
4.12 Análise estatística	69
4.13 Ética	72

5 RESULTADOS	73
5 RESULTADOS	74
5.1 Perfil epidemiológico dos pacientes	74
5.1.1 Tamanho da população	74
5.1.2 Gênero	74
5.1.3 Idade	74
5.1.4 Etnia	75
5.1.5 Residência	76
5.1.6 Naturalidade	76
5.2 Perfil clínico dos pacientes	77
5.2.1 Medidas antropométricas e índice de massa corpórea (IMC)	77
5.2.2 Tempo de diagnóstico da Psoríase	79
5.2.3 Forma clínica da Psoríase	79
5.2.4 Acometimento de áreas especiais	80
5.2.5 Presença de prurido e fatores de piora e melhora da psoríase	80
5.2.6 Artrite psoriásica e outras comorbidades	81
5.2.7 Tratamento	82
5.3 Avaliação do risco de Leishmaniose	83
5.3.1 Dados epidemiológicos de risco e história pregressa de leishmaniose	83
5.3.2 Resultados dos exames de rastreamento (PCR, RPCR e sorologia)	84
5.2.4 Avaliação dos pacientes com exames de rastreamento positivos	100
6 DISCUSSÃO	101
6 DISCUSSÃO	102
6.1 Perfil Epidemiológico dos pacientes	102
6.2 Perfil Clínico dos pacientes	103
6.3 Grupamentos e risco de leishmaniose	105
6.4 Limitações	107
7 CONCLUSÕES	109

7 CONCLUSÕES.....	109
8 PERSPECTIVAS.....	112
8 PERSPECTIVAS.....	112
9 PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PRÊMIAS RELACIONADA AO MATERIAL DA TESE.....	114
9 PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PREMIAÇÕES RELACIONADAS AO MATERIAL DA TESE	115
9.1 Apresentações em congressos	115
9.2 Artigos publicados.....	115
9.3 Artigos submetidos à publicação.....	115
9.4 Prêmios.....	115
10 REFERÊNCIAS	117
10 REFERÊNCIAS	118
APÊNDICES	128
Apêndice A	129
Apêndice B – Termo de consentimento livre e esclarecido	130
Apêndice C – Ficha clínica	133
Apêndice D – The paradox of tegumentary leishmaniasis diagnosis: how the need for accurate and modern techniques is being addressed in low income areas.....	136
Apêndice E – Cross-sectional screening study for <i>Leishmania</i> DNA and antibodies in biologic-treated psoriasis patients living in an area endemic for leishmaniasis	138
ANEXOS	139

Anexo 1 – Índice de Gravidade da Área de Psoríase.....	140
Anexo 2 – Índice de Gravidade Ungueal em Psoríase.....	141
Anexo 3 – Índice de Qualidade de vida em Dermatologia.....	142
Anexo 4 – Folha de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FM/UnB.....	143

1 INTRODUÇÃO



Réplica de uma cerâmica inca mostrando paciente com sinais de leishmaniose cutâneo-mucosa

1 INTRODUÇÃO

1.1 Revisão da Literatura

1.1.1 Psoríase

1.1.1.1 Conceito

Desordem sistêmica, inflamatória, crônica e imunomediada, cujas principais manifestações são cutâneas e articulares.(1-3)

1.1.1.2 Epidemiologia

A psoríase é um quadro universal, com prevalência de 0 a 11,8%, dependendo da etnia da população estudada.(1, 4) As maiores prevalências são encontradas na América do Norte e na Europa,(4) sendo considerada a doença autoimune mais prevalente nos EUA, e com taxas de 8,5%, por exemplo, na Noruega.(5) Asiáticos e populações indígenas parecem ser menos acometidos. Um estudo com mais de 5 milhões de chineses revelou uma prevalência de 0,2%,(6) enquanto nenhum caso foi encontrado em estudos com quase 26000 índios sul-americanos e com 12500 samoanos.(4, 7) Romiti *et al* mostraram prevalência de 1,31% da doença no Brasil.(5)

Em relação à incidência, poucos estudos foram conduzidos. A incidência mundial oscila entre 1-3%.(4) Estima-se que, nos EUA, a psoríase atinja 60,4: 100 000 pessoas/ano, e no Reino Unido, 140: 100000 pessoas/ano.(6)

A psoríase acomete em iguais proporções homens e mulheres.(6) Em cerca de 75% dos casos, a doença se inicia antes dos 40 anos, e apesar de ser mais precoce nas mulheres, sua história natural é semelhante nos dois gêneros.(6)

Estudos epidemiológicos entre populações caucasianas e asiáticas mostraram que os pacientes com psoríase apresentam um maior risco de comorbidades como doença intestinal inflamatória, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica.(1, 2, 8) Essas comorbidades influenciam na qualidade de vida destes pacientes e contribuem para uma redução na expectativa de vida de 3 a 4 anos.(2)

1.1.1.3 Quadro Clínico

As lesões cutâneas da psoríase manifestam-se como pápulas ou placas descamativas, eritematosas, bem delimitadas, com escamas argênticas.(9, 10) Elas tendem a ser circulares, ovais ou policíclicas, de dimensões variáveis.(10) Característicos também são o sinal de Auspitz, definido como a presença de orvalho sanguíneo após a remoção mecânica das escamas,(9) e a presença de halo hipocrômico, denominado halo de Woronoff.(10) Fenômeno de Koebner é o aparecimento de lesões de psoríase em pele sadia após irritação inespecífica ou trauma, e está presente em 20% dos pacientes.(9)

O acometimento ungueal ocorre em 10-80% dos pacientes, chegando a 87% nos pacientes com artrite psoriásica.(11) As unhas das mãos são mais afetadas que as do pé. O quadro afeta a matriz e leito ungueal, assim como o hiponíquio, podendo se manifestar menos comumente como leuconíquia e perda da transparência ungueal.(12) Outros achados incluem *pitting*, lesão em “mancha de óleo” (por exocitose dos leucócitos abaixo da lâmina ungueal), pontos hemorrágicos, hiperkeratose subungueal e onicolise distal até grandes deformidades como onicodistrofia, resultando em aspecto queratótico amarelado.(9, 12)

As principais formas de apresentação clínica da psoríase incluem a psoríase em placa ou vulgar, *gutata*, eritrodérmica, palmoplantar e pustulosa.(10)

A forma cutânea mais comum é a psoríase em placa, ou psoríase vulgar, que acomete cerca de 90% dos pacientes.(10) Ela apresenta lesões eritematosas, descamativas e simétricas, comumente nos cotovelos, joelhos, couro cabeludo, região coccígea e umbigo.(9) Com menor frequência, ela pode atingir as grandes dobras, como axila, virilha e pescoço (psoríase invertida).(10) Nesse caso, as lesões são tipicamente placas eritematosas, brilhantes, sem descamação, o que faz com que frequentemente sejam confundidas com intertrigo, candidíase e dermatofitoses.(9, 10)

Psoríase *gutata* acomete cerca de 2% dos pacientes, apresentando-se como lesões pequenas no tronco e áreas proximais dos membros. Ela classicamente é descrita após infecção orofaríngea por estreptococo do grupo B, especialmente em crianças.(9)

A psoríase eritrodérmica é caracterizada por acometimento total ou quase total da superfície corporal por psoríase ativa. Estudo realizado em pacientes no Hospital Universitário de Brasília (HUB) mostrou essa forma de apresentação em 1,8% dos 108 pacientes estudados.(4) Eritema generalizado é a característica mais comum e a descamação usualmente é menos proeminente que na psoríase em placa. Essa forma de psoríase pode ocorrer de forma abrupta, geralmente precipitada por infecção, drogas, principalmente após uso de corticosteroide, ou se sobrepor a uma forma vulgar.(9)

A forma palmoplantar é mais frequente no adulto, acometendo 4,6% dos pacientes.(4) Observam-se placas bem delimitadas e simétricas, associada à intensa hiperqueratose, com ou sem fissuras, com tendência a poupar o cavo plantar.(10)

A psoríase pustulosa é a forma mais rara,(10) embora tenha sido relatada em até 4,6% dos pacientes.(4) Ela se divide em duas variantes principais. A psoríase pustulosa do tipo von Zumbusch caracteriza-se por erupção de pústulas estéreis sobre pele eritematosa no tronco e extremidades, poupando a face. Os pacientes tendem a apresentar sinais e sintomas de doença sistêmica com febre, taquicardia, emagrecimento, artralgia, leucocitose e aumento da velocidade de hemossedimentação sanguínea (VHS). A outra variante da psoríase pustulosa caracteriza-se por ser limitada à palma e planta, não apresentando sinais de acometimento sistêmico.(9)

Diversos são os instrumentos descritos para avaliação clínica da psoríase, como por exemplo o índice de Acometimento de Superfície Corporal (BSA- do inglês *Body Surface Area*), o Índice

de Gravidade Ungueal da Psoríase (NAPSI, do inglês *Nail Psoriasis Severity Index*) e o Índice de Gravidade da Área de Psoríase (PASI, do inglês *Psoriasis Area and Severity Index*).⁽¹⁰⁾

Uma revisão sistemática dos melhores instrumentos para avaliação da gravidade clínica da doença mostrou que o PASI foi o índice de gravidade mais estudado, além de se mostrar o instrumento mais validado de acordo com critérios metodológicos.^(8, 13) Ele foi desenvolvido em 1978 por Fredricksson e Petterson para avaliar a gravidade da psoríase.⁽¹⁴⁾ Esse índice analisa as 4 regiões do corpo (cabeça, tronco, membros superiores e inferiores) em relação ao eritema, induração (espessura), descamação das placas e área corporal afetada. Pontuações de 0-4 são atribuídas ao eritema, induração e descamação, de acordo com sua intensidade (0-ausente, 1-leve, 2-moderada, 3-intenso, 4-grave). A superfície corporal afetada é expressa em porcentagem (0-100%), com a pontuação correspondente expressa de 1-6 (1- menos de 10%, 2- entre 10-29%, 3- 30-49%, 4-50-69%, 5- 70-89% e 6 entre 90-100%).

Apesar de sua ampla utilização, até o momento, o ponto de corte para definição da gravidade da psoríase ainda não foi definido. Alguns autores definem psoríase grave quando o PASI é maior ou igual a 18, enquanto para outros o ponto de corte seria 12.⁽¹⁴⁾

1.1.2 Artrite Psoriásica

1.1.2.1 Conceito

Artropatia inflamatória crônica, classificada entre as espondiloartrites, associada à psoríase cutânea, usualmente soronegativa, ou seja, não associada à presença do autoanticorpo fator reumatoide.(4, 15, 16)

1.1.2.2 Epidemiologia

As manifestações reumáticas são 10 a 15 vezes mais comuns em pacientes com psoríase que na população geral.(17) Cerca de 5 a 42% dos pacientes portadores de psoríase vão desenvolver artrite,(18) embora nem toda manifestação articular corresponda à artrite psoriásica.(4) Nos EUA, a prevalência da artrite psoriásica é cerca de 0,25% da população geral.(6) No Brasil, estudo mostrou frequências mais elevadas de artrite psoriásica, com taxas de 33%.(11) A incidência parece variar em torno de 83 casos por 100000 pessoas/ano.(16)

O quadro cutâneo precede as manifestações articulares em 75% dos casos, é posterior à artrite em 15% dos casos e em 10% dos indivíduos acometidos, pele e articulações são acometidas de forma simultânea.(6, 18) O quadro articular tende a aparecer cerca de 2 décadas após o quadro cutâneo,(18) sendo o pico de incidência acima dos 50 anos.(17) A frequência é semelhante em ambos os gêneros, apesar da forma com acometimento axial afetar 3-5 vezes mais os homens.(4, 16, 18) A distrofia ungueal, as lesões psoriásicas do couro cabeludo, região interglútea ou perianal e o maior tempo de doença cutânea são fatores descritos como associados à maior probabilidade de desenvolvimento de artrite psoriásica.(6, 17, 19, 20) Apesar disso, com exceção do acometimento ungueal, que geraria inflamação das enteses, a associação entre localização de placa cutânea e acometimento articular não mostra uma explicação causal.

1.1.2.3 Quadro Clínico

Originalmente, Moll e Wright descreveram 5 padrões clínicos da artrite psoriásica: acometimento das articulações interfalangeanas distais, acometimento oligoarticular assimétrico, poliarticular simétrico, espondilite e sacroileíte, e artrite mutilante.(16, 21) Entretanto, a sobreposição de manifestações entre os vários subgrupos é frequente, de forma que a tendência atual é classificar o quadro em: oligoarticular (menos de 4 articulações acometidas), poliarticular (5 ou mais articulações acometidas) e axial.(18)

A forma oligoarticular se caracteriza por aspectos típicos de inflamação articular, como edema, eritema e calor, acometendo de forma assimétrica as articulações interfalangeanas proximais, distais e metacarpofalangeanas, além dos pododáctilos, tornozelos, joelhos e articulações coxofemorais.(18) A forma poliarticular assemelha-se à artrite reumatoide, acometendo tanto grandes quanto pequenas articulações, de forma mais simétrica.(9, 18) O acometimento da coluna ocorre em 40% dos pacientes e justifica a inclusão da artrite psoriásica no grupo das espondilartrites.(9) Com a evolução do quadro, a diminuição dos espaços articulares e as erosões levam a deformidades articulares, acarretando severa incapacidade em cerca de 20% dos pacientes.(21) Dez a cinquenta por cento dos pacientes podem apresentar alterações radiológicas das articulações sacroilíacas, mesmo que assintomáticos.(18)

Elementos clínicos importantes são entesite e dactilite, que ocorrem em 40% e 50% dos pacientes, respectivamente.(4, 17) A entesite pode ocorrer em qualquer parte do corpo, embora localizações mais comuns sejam a inserção da fásia plantar, tendão de Aquiles, costelas, coluna e pelve, e é considerada uma marca registrada da doença.(17) Dactilite, ou “dedo em salsicha”, é a combinação de entesite dos tendões e ligamentos assim como sinovite das articulações de todo o dedo.(18)

A artrite psoriásica está associada à psoríase ungueal em 87% dos pacientes, o que parece ocorrer pela inflamação de ênteses intimamente relacionadas à unha, articulação e tendão do extensor da falange distal.(18, 20) Dentre as lesões ungueais mais associadas à artrite psoriásica, destacam-se a onicólise, o *pitting* e a onicodistrofia.(17, 22)

Manifestações extra-articulares podem estar presentes e incluem: conjuntivite, uveíte, úlceras orais, envolvimento gastrointestinal, e mais raramente, fibrose pulmonar e insuficiência aórtica.(18, 20, 23)

Há dificuldades de diagnóstico da artrite psoriásica e vários critérios de classificação já foram propostos.(4)

O critério de classificação de Caspar (do inglês *Classification Criteria for Psoriatic Arthritis*) mostrou-se útil na artrite psoriásica quando aplicado em pacientes com artropatia inflamatória, com sensibilidade de 91,4% e especificidade de 98,7%.(15, 23, 24) Sua limitação seria o fato de ter sido desenvolvido baseado em pacientes com doença estabelecida (com cerca de 11 anos de evolução).(24, 25) Entretanto Chandran *et al* comprovaram alta sensibilidade dos critérios tanto em pacientes com doença antiga quanto inicial (definida como menos de 2,5 anos de duração) (97,2% e 99,1%, respectivamente).(15)

Os critérios de Caspar exigem presença de doença inflamatória articular periférica, axial ou entesítica associada à obtenção de no mínimo 3 pontos conforme evidência de psoríase cutânea (atual vale 2 pontos, prévia ou familiar, 1 ponto cada), distrofia ungueal psoriásica, fator reumatoide negativo, dactilite ou evidência radiográfica característica.(15, 23)

A avaliação laboratorial e os exames complementares são inespecíficos, podendo mostrar elevação das provas de atividade inflamatória como VHS, proteína-C reativa e alfa 1-glicoproteína (alfa1GPA), com eventual hipergamaglobulinemia policlonal.(4, 15) Apesar disso, a identificação de biomarcadores circulantes potenciais para identificar casos de artrite psoriásica não diagnosticada entre pacientes com psoríase cutânea mostrou resultados promissores numa coorte com 300 pacientes.(26) Proteína CD5-símile, integrina B5, proteína MAC-2-ligante, mieloperoxidase, e metaloproteinase 3 são candidatos a biomarcadores, mostrando melhor relação que a proteína C reativa.(20, 26) Achados radiográficos incluem redução do espaço articular, erosões e proliferações ósseas, além de predileção pelo acometimento de interfalangeanas distais (erosão marginal e neoformação óssea adjacente), periostite com falange “em marfim”, deformidade “lápiz na xícara” e, mais raramente, envolvimento tipo coluna “em bambu”.(4, 23) Sinais preditivos de artrite psoriásica na ultrassonografia foram investigados por Furlan *et al*, que mostraram que o espessamento no tendão flexor do polegar era um sinal de fácil detecção, com boa sensibilidade (80%) e especificidade de 70%.(27)

Vários instrumentos para avaliação de gravidade da doença já foram validados. O grau de acometimento de diferentes domínios da artrite psoriásica (como articulações, pele, unhas e enteses) pode variar entre os pacientes, assim como com o tempo no mesmo paciente, porém todos parecem apresentar impacto significativo na qualidade de vida do paciente.(23, 25) O *Composite Psoriatic Disease Activity Index* (CPDAI) categoriza a artrite psoriásica em leve, moderada e grave, mostrando correlação significativa com a percepção do paciente e do médico, além de permitir a avaliação da eficácia do tratamento.(28) No CPDAI, avaliam-se 5 domínios: 1) articulações periféricas (edema ou dor); 2) pele (PASI); 3) dactilite (número de dígitos acometidos); 4) entesite (número de sítios de inserções de tendões / fásia com entesite) e manifestações axiais (*Ankylosing Spondylitis Quality of life* e *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Index*). Cada domínio é pontuado de 0-3, resultando num escore que varia de 0-15.(29)

1.1.3 Tratamento

O tratamento da psoríase deve ser multidisciplinar e inclui medidas farmacológicas e não farmacológicas, como apoio psicológico / psicoterápico, quando necessário. Além disso, ele depende da forma clínica da psoríase, da extensão e gravidade do quadro e de fatores como idade, ocupação, condições gerais de saúde, nível intelectual e socioeconômico do paciente.(10, 30) Também deve ser levado em conta o impacto que a psoríase representa na qualidade de vida do paciente, uma vez que quadros clínicos mais localizados podem ser muito prejudiciais ao desenvolvimento de atividades diárias, como ocorre, por exemplo, com as lesões palmoplantares.(10, 30)

Os quadros leves, sem comprometimento da qualidade de vida, podem ser tratados apenas com medicações tópicas, as quais também atuam como adjuvantes da fototerapia ou da medicação sistêmica. Na psoríase moderada a grave, classificada na maioria dos estudos como BSA ou PASI e DLQI (*Dermatology Life Quality Index* – índice que avalia o impacto da doença na qualidade de vida) maior que 10,(30) a fototerapia e as medicações sistêmicas estão indicadas.(3, 10)

Segundo o CONSENSO BRASILEIRO DE PSORÍASE o tratamento da psoríase vulgar moderada a grave deve seguir o seguinte algoritmo: (Fig.1)

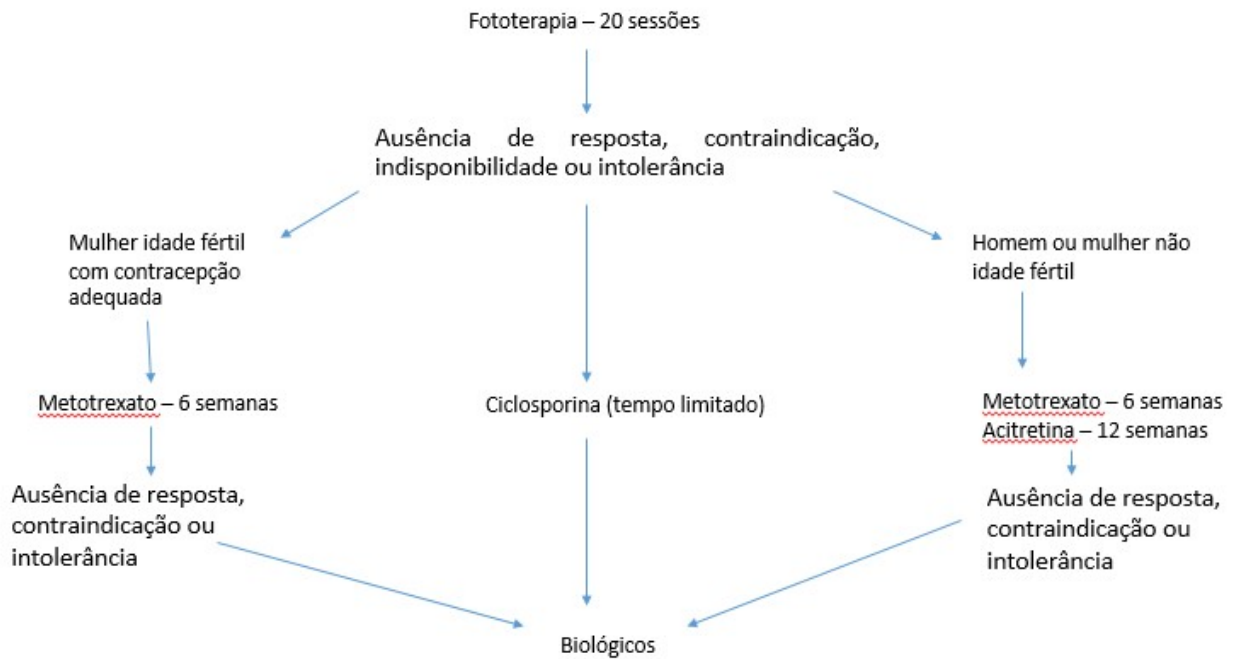


Fig. 1: Fluxograma de tratamento da psoríase moderada a grave adaptado do Consenso Brasileiro de Psoríase.(10)

A artrite psoriásica é multifatorial, envolvendo distintos aspectos que devem ser considerados na decisão do tratamento. É necessário individualizar a terapêutica levando-se em conta o predomínio axial, periférico, as dactilites e entesites, o acometimento cutâneo e ungueal, além das comorbidades e considerações econômicas e sociais.

Em relação à artrite psoriásica, a *European League Against Rheumatism* (EULAR) e *The Group for Research and Assessment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis* (GRAPPA) elaboraram um algoritmo, atualizado em 2015: (Fig. 2)

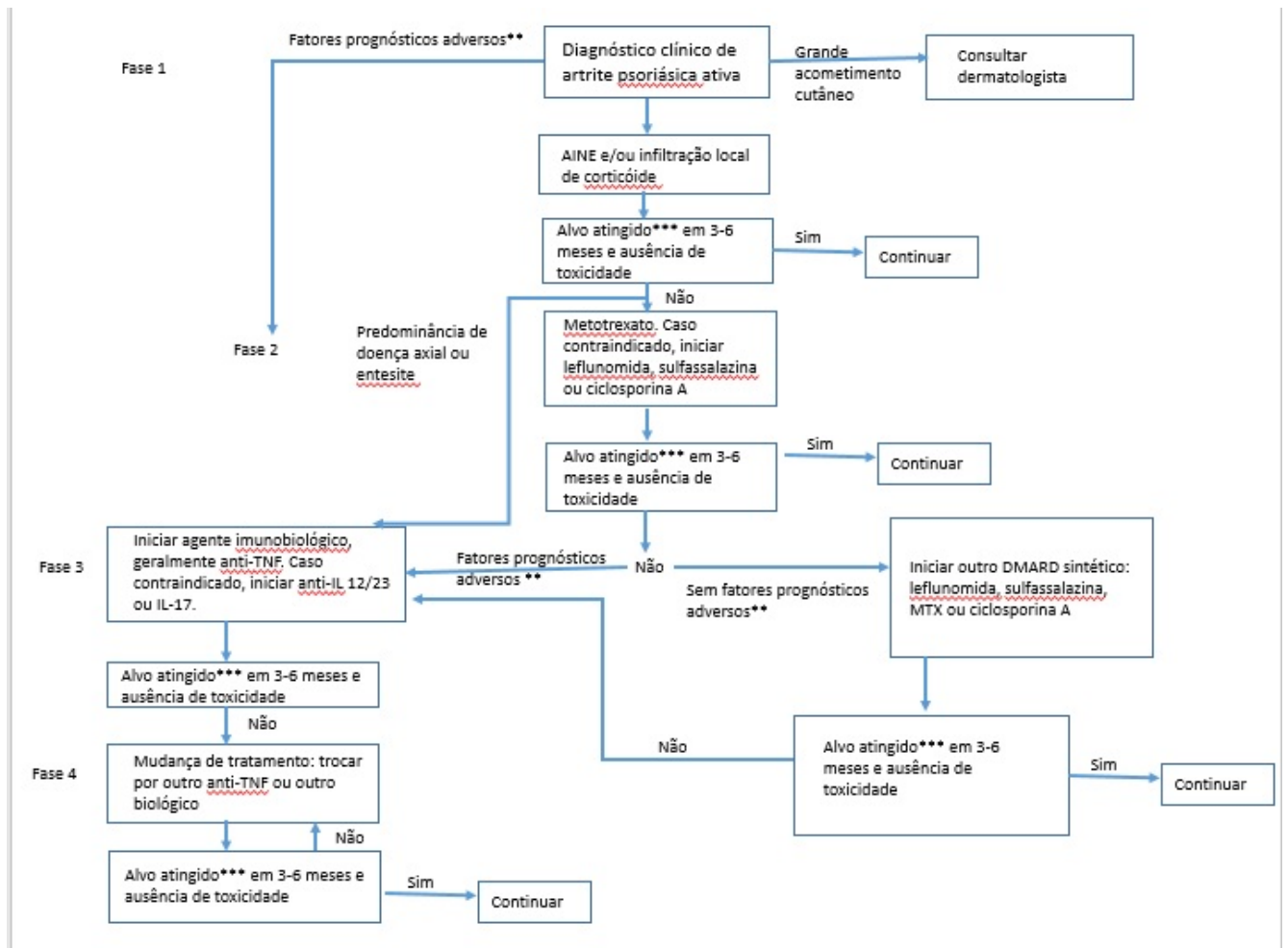


Fig. 2: Algoritmo do EULAR para tratamento da artrite psoriásica (2015) – figura e legendas adaptadas de Raychaudhuri *et al*, 2016.(25) Artrite psoriásica ativa é definida como 1 ou articulações inflamadas e dolorosas, ponto de êntese doloroso, dactilite e/ou dor lombar inflamatória.

**Fatores prognósticos adversos são definidos como 5 ou mais articulações com inflamação ativa, alteração radiográfica, reagentes de fase aguda elevados, manifestações extra-articulares (dactilite)

*** Alvo atingido é considerado como remissão clínica (ausência de sinais e sintomas), ou baixa atividade da doença.

MTX – metotrexato; TNF – fator de necrose tumoral, IL-interleucina

Uma vez iniciado o tratamento, o paciente deve ser avaliado em intervalos periódicos. Os *guidelines* europeus, em geral, recomendam avaliação após a fase de indução, que apesar de variar com a droga escolhida, tipicamente varia entre 12-24 semanas, e definem sucesso de tratamento como: 1) uma melhora de pelo menos 75% no PASI ou; 2) melhora de pelo menos 50% no PASI e DLQI menor ou igual a 5.(31) Alternativamente, a *National Psoriasis Foundation* recomenda o BSA como melhor parâmetro, considerando que um BSA menor ou igual a 3%, ou uma melhora maior ou igual a 75% sejam considerados como resposta desejável ao tratamento.(32)

1.1.3.1 Tratamentos não imunomoduladores

O tratamento medicamentoso pode ser dividido em tópico ou sistêmico. As terapias tópicas podem ser utilizadas de forma isolada ou combinadas à fototerapia e terapia sistêmica. Dentre as medicações tópicas, incluem-se os corticoides tópicos, coaltar e antralina, e os análogos da vitamina D.(8, 10, 30)

A fototerapia com ultravioleta B (UVB), UVB de banda estreita (nUVB) e ultravioleta A (UVA) seguidas de ingestão ou tratamento tópico com psoralenos são terapias clássicas em pacientes com psoríase moderada a grave. No final dos anos 70, a monoterapia com doses eritematogênicas de UVB de banda larga demonstrou ser um tratamento eficaz; mais tarde, nUVB (311-313nm) foi desenvolvido, sendo atualmente considerado a melhor irradiação. O excimer laser 308 nm pode ser utilizado em quadros localizados, com lesões limitadas.(30)

Quando a erupção não puder ser controlada pelo tratamento tópico isolado ou associado à fototerapia, ou a extensão ou gravidade da condição ou do paciente assim exigirem, podem ser utilizados os tratamentos sistêmicos.(30)

Dentre os tratamentos sistêmicos, a acitretina é um medicamento do grupo dos retinóides, tendo substituído o etretinato por ter menor meia-vida. Apresenta propriedades antiinflamatórias, antiproliferativas e ceratolíticas.(10)

Paciente com acometimento articular leve pode ser manejado com antiinflamatórios não-esteroidais (AINE). Essas drogas auxiliam no alívio dos sintomas da artrite psoriásica, como dor

e edema, apesar de não modificarem o curso da doença. Elas não previnem o desenvolvimento nem diminuem a velocidade da progressão das erosões articulares.(25)

1.1.3.2 Tratamentos imunomoduladores convencionais

O uso do corticóide sistêmico deve ser restrito aos casos de exacerbação cutânea aguda e utilizado por tempo limitado, objetivando o alívio dos sintomas, sempre em associação com o uso de outros medicamentos imunossupressores.(10) Apesar de ser um tratamento clássico na artrite inflamatória, eles são usados com parcimônia na artrite psoriásica, pelo risco da piora cutânea quando reduzidos e pela possibilidade de indução de psoríase pustulosa. (25)

A ciclosporina suprime a inflamação e a proliferação de células T ativadas e inibe a síntese de citocinas proliferativas. Pelo risco considerável de glomeruloesclerose, é aprovado por no máximo 1 ano de tratamento contínuo nos EUA e por 2 anos na Europa. Ela é melhor indicada como terapia de indução em pacientes graves, que precisam de rápida resposta até substituição por outro tratamento.(30) Sua eficácia na artrite psoriásica é modesta.(25)

O metotrexato (MTX) é um antimetabólito, estruturalmente análogo ao ácido fólico, que inibe de maneira competitiva a atividade da enzima diidrofolato-redutase, sendo considerado quimioterápico específico da fase S (de síntese) do ciclo celular.(25) Sua ação é mais marcante sobre populações celulares em fase de crescimento exponencial, o que explica efeito seletivo sobre células tumorais e ação sobre tecidos em proliferação. Foi originalmente usado na psoríase devido a seu efeito nos queratinócitos em rápida divisão.(10) Sabe-se hoje, entretanto, que o efeito mais marcante do MTX pode ser antiinflamatório, diminuindo a quimiotaxia dos polimorfonucleares, inibindo a inflamação cutânea C5-a induzida, diminuindo a quimiotaxia B4-induzida e o número de células OK-T6 positivas na epiderme. Além disso, ele inibe a produção de IL-1 e diminuindo a densidade de células de Langherhans na epiderme, parecendo ainda ter efeito nas células apresentadoras de antígeno.(10) Apesar de não haver evidência clínica específica da eficácia do metotrexato na artrite psoriásica, ele usualmente é utilizado como primeira linha tanto como monoterapia quanto em combinação com imunobiológicos.(25)

Apesar do risco de hepatopatia, o metotrexato parece ter o melhor perfil combinado de segurança e eficácia, sendo sugerida biópsia após dose acumulada de 3.5-4.0g em pacientes de baixo risco. Recomendações recentes têm indicado o uso de elastografia e painel de biomarcadores séricos de função hepática para monitorar a hepatotoxicidade.(30)

A leflunomida é um inibidor da síntese da pirimidina, que impede a ativação e proliferação de células T. Estudos mostraram que ela é capaz de controlar tanto sintomas cutâneos quanto articulares, quando comparada a placebo. Seus principais efeitos colaterais são toxicidade gastrointestinal (diarreia e náusea), aumento de enzimas hepáticas e leucopenia.(25)

A sulfassalazina é sintetizada a partir da combinação da sulfapiridina e salicilato através de uma ligação azo, e provavelmente age inibindo a via da 5-lipoxigenase. A maior parte dos estudos mostraram ação nos escores de dor da artrite psoriásica, sem efeito na progressão radiológica.(25)

1.1.3.3 Tratamentos imunomoduladores imunobiológicos

O termo medicamento imunobiológico é aplicado para designar anticorpos monoclonais e proteínas de fusão que exercem suas atividades terapêuticas pelo bloqueio de citocinas específicas ou receptores de citocinas importantes na patogênese da psoríase e da artrite psoriásica.(3)

Os biológicos podem ser usados como monoterapia ou associados à fototerapia e à fotoquimioterapia, ou, ainda, a drogas como a acitretina e o metotrexato.(10)

Dentre os medicamentos disponíveis, encontram os anti-Fator de Necrose Tumoral (TNF):

- Etanercepte: proteína de fusão do receptor p75 Fc do TNF solúvel, mas com menor capacidade de se ligar ao TNF transmembrânico das células produtoras, como linfócitos e macrófagos.(3, 25)
- Infliximabe: anticorpo monoclonal quimérico anti-TNF, capaz de inibir os TNF solúveis e também TNF transmembrânico nas células produtoras desta citocina, levando a morte destas células.(3, 25)
- Adalimumabe: anticorpo monoclonal humano anti-TNF, também capaz de se ligar aos TNF solúveis e transmembrânicos, inibindo a interação com seus receptores. (3, 25)

- Golimumabe: anticorpo monoclonal humano anti-TNF, aprovado apenas para artrite psoriásica.(25)
- Certolizumabe: aprovado para artrite psoriásica e recentemente para psoríase, difere dos outros anti-TNF por ser um fragmento Fab humanizado peguilado de um anticorpo monoclonal anti-TNF. (25) A ausência da região Fc impede a fixação do complemento e a citotoxicidade mediada por anticorpos. Além disso, não há interação com o receptor Fc gama neonatal, minimizando sua passagem pela placenta.(3)

E as anti-interleucinas:

- Ustequinumabe: anticorpo monoclonal que se liga com especificidade à subunidade compartilhada proteica p40 das citocinas humanas interleucina (IL)-12 e IL-23. Inibe a bioatividade da IL-12 e da IL-23 humanas impedindo que a p40 se ligue ao receptor proteico IL-12Rbeta1 expresso na superfície das células do sistema imunológico.(25)
- Secuquinumabe: anticorpo humano monoclonal IgG1 que se liga à IL-17A, neutralizando-a e inibindo sua interação com o receptor da IL-17.(3)
- Ixequizumabe: anticorpo monoclonal humanizado IgG4 anti-IL-17A.(3)
- Guselcumabe: anticorpo humano IgG1 lambda que bloqueia a subunidade p19 da IL-23.(3)
- Risanquizumabe: anticorpo monoclonal humanizado IgG1 que inibe seletivamente a IL-23, através da ligação com a subunidade p19.(3)

1.1.4 Imunomoduladores e infecções

Os medicamentos imunomoduladores agem em vias imunológicas, atuando contra células e moléculas alvos presentes na fisiopatologia das doenças autoimunes constituindo importante ferramenta no tratamento destas doenças.(7, 33)

Por outro lado, os sítios alvos dessas terapias também apresentam papéis importantes em processos fisiológicos, como homeostase imune normal e controle do ciclo celular. O bloqueio

dessas vias tende a alterar a função imune, com consequente aumento do risco de infecções, tanto agudas quanto latentes ou crônicas.(7, 33)

O MTX, por exemplo, diminui a resposta imune celular, inibe a quimiotaxia dos neutrófilos e a proliferação dos linfócitos T, estando associado ao desenvolvimento de infecções oportunistas.(34) Estudo prospectivo publicado em 1994 sugeriu que pacientes em uso de MTX apresentavam maior risco de infecção grave (RR 1.52 - 95% CI 1.04 - 2.13).(35)

A terapia anti-TNF prejudica o esforço inicial do organismo de aumentar o TNF α a fim de ativar os macrófagos e levar a formação do granuloma, aumentando a susceptibilidade e diminuindo a habilidade de combater infecções. O TNF é implicado não somente na indução da formação de granulomas, mas também em sua manutenção, podendo explicar a participação da terapia anti-TNF na reativação de doenças granulomatosas, o que já foi bem documentado na tuberculose.(35) Por se ligar principalmente ao TNF solúvel e com menor afinidade ao TNF transmembrânico, o etanercepte apresenta uma menor interferência na formação do granuloma, o que justifica seu menor risco de reativação de tuberculose latente.(36)

O ustequinumabe foi a única anti-interleucina já associada ao aparecimento de infecções graves.(33) Um caso de leishmaniose disseminada foi relatado, e relacionado ao fato de já ter sido demonstrado que a IL-12 é essencial no controle da infecção por *Leishmania* pela promoção da resposta Th1.(37) Conforme resultados de revisão sistemática, os agentes anti-IL-17 não mostraram relação com o desenvolvimento de tuberculose ativa, de forma que seu uso seria seguro mesmo em pacientes com tuberculose latente.(36) Por sua vez, o uso de anti-TNF e ustequinumabe nesses pacientes requer quimioprofilaxia para tuberculose por pelo menos 1 mês antes da imunossupressão.(36)

O risco de infecções em pacientes em uso de tratamentos biológicos e não-biológicos foi comparado em alguns estudos.

Dados recentes do registro espanhol (BIOBADADERM), que incluiu 2153 pacientes no período de 2008 a 2015, mostraram que o uso da acitretina estava associado a risco significativamente menor (risco relativo [RR] 0.6, 95% CI 0.42–0.86), enquanto a ciclosporina mostrava maior risco de infecções (RR ajustado de 1.58, 95% CI 1.17–2.15) quando comparadas ao MTX.(38) Por outro lado, todos os anti-TNF tiveram maiores taxas de infecção. Dentre os imunobiológicos, o infliximabe teve o maior RR ajustado, 1.71 (1.10–2.65), enquanto o ustequinumabe teve o menor (RR 0.93, 95% CI 0.64–1.36). O risco de infecções graves, entretanto, foi pequeno, com 2-23

infecções graves por 1000 pacientes/ano em todos os imunobiológicos estudados (adalimumabe, etanercepte, infliximabe e ustekinumabe). O tratamento combinado de adalimumabe e MTX mostrou maior risco de recorrências de infecção (RR ajustado 4.33, 95% CI 2.27–8.24). Entretanto, ainda é controverso se a terapia combinada de biológico e MTX aumenta o risco de infecção quando comparado com o uso de biológico isolado, uma vez que não foi observado impacto da terapia associada nos pacientes com artrite reumatoide.(39)

Estudo baseado no acompanhamento de 11466 pacientes registrados no PSOLAR, um registro intercontinental de pacientes com psoríase, mostrou que a maior incidência de infecções graves ocorreu com infliximabe (2.49), 95% CI (1.88–3.23) por 100 pacientes/ano, seguido por adalimumabe (1.97), 95% CI (1.61–2.39) por 100 pacientes/ano. O etanercepte teve o menor risco, entre os anti-TNF estudados, enquanto o ustekinumabe não mostrou aumento de risco de infecção grave. Pacientes em uso de MTX apresentaram o menor risco de infecção grave (1.28; 95% CI [0.73–2.09] por 100 pacientes/ano). (33)

Rademaker *et al*, avaliando o Registro Australiano de Psoríase e dados da literatura, concluíram que doses altas a moderadas de corticoides sistêmicos causariam maior risco para reativação de tuberculose latente ou promoção de outras infecções graves que o uso dos medicamentos biológicos atuais.(40)

Infecções respiratórias e cutâneas são as infecções mais prevalentes e as infecções granulomatosas representam situação especial.(33)

A fim de diminuir os riscos de infecções, *guidelines* foram desenvolvidos com recomendações de avaliação dos pacientes antes do início de tratamentos com drogas imunossupressoras, que incluem sorologia para hepatite B (HBV) e C (HCV), sífilis e HIV (vírus da imunodeficiência humana), PPD (prova cutânea da Tuberculina) ou IGRA (*interferon gamma release assay*) e radiografia de tórax para investigação de tuberculose.

Entretanto, revisão sistemática recente mostrou taxas de tuberculose (TB) ativa entre 0.2-3% nos pacientes imunossuprimidos, mesmo após rastreamento, incluindo pacientes com rastreamento negativo e sem fatores de risco para TB primária. (36) Os autores relacionaram esse fato à taxa de falsos negativos de 10-30% do PPD e do IGRA no diagnóstico de TB latente.(36) Além disso, até o momento não existem dados consistentes nem recomendações a respeito das outras doenças endêmicas, e relatos de casos destacando essas associações têm sido cada vez frequentes.

1.1.5 Leishmaniose

1.1.5.1 Conceito

A leishmaniose é uma antropozoonose que pode ser causada por diversas espécies de protozoários flagelados do gênero *Leishmania*, transmitidos por insetos do gênero *Lutzomyia*.(41)

1.1.5.2 Epidemiologia

A Organização Mundial de Saúde (OMS) inclui a leishmaniose entre as seis doenças infectoparasitárias mais importantes do mundo,(42) e a doença é considerada um problema de saúde pública em 64 países, 90% dos casos concentrando-se na Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil.(43, 44) (Fig. 3) Além disso, registram-se cerca de 1-1,5 milhões de casos novos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) a cada ano,(45) e cerca de 0.2-0.4 milhão de casos anuais de leishmaniose visceral (LV)(46).

Na Europa, ocorre principalmente entre os países que margeiam o Mediterrâneo, como Portugal, Espanha, França, Itália, Grécia e Turquia. Na África, a doença tem maior concentração nos países das regiões Leste e Norte, enquanto na Ásia, compromete principalmente os países do oriente Médio.(47)

Na América, a leishmaniose está distribuída desde o extremo-sul dos Estados Unidos até a América do Sul, onde apenas o Chile e o Uruguai não apresentam registros da doença.(47)

Migrações e viagens internacionais têm causado um aumento de casos de leishmaniose em regiões não endêmicas, destacando a importância do reconhecimento desta infecção parasitária.(46, 48)

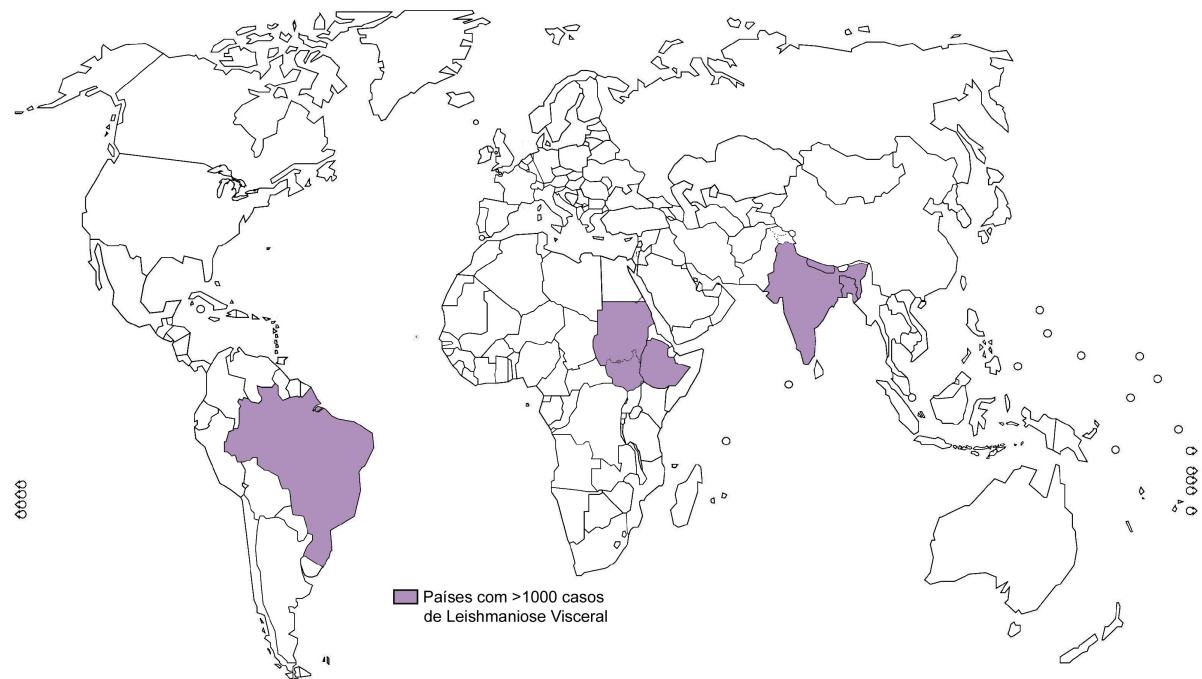


Fig 3: Áreas com maior concentração de casos de leishmaniose visceral no mundo.(44)

Segundo Lainson & Shaw,(49) a posição taxonômica do gênero *Leishmania* apresenta a seguinte classificação:

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: *Sarcomastigophora*

Sub-filo: *Mastigophora*

Classe: *Zoomastigophora*

Ordem: *Kinetoplastida*

Subordem: *Trypanosomatina*

Família: *Trypanosomatidae*

Gênero: *Leishmania*

Ainda segundo esses autores, as espécies do gênero *Leishmania* estão classificadas em dois subgêneros, conforme o comportamento do parasito no tubo digestivo do inseto flebotomíneo

vetor: subgênero *Viannia*, compreende as espécies que pertencem ao complexo *braziliensis*, com desenvolvimento desde o intestino posterior (píloro e íleo) até o anterior (esôfago); e subgênero *Leishmania*, compreende as espécies que pertenciam ao complexo *mexicana*, com desenvolvimento a partir do intestino médio (estômago) até o anterior (esôfago). Todas as espécies do subgênero *Viannia* são autóctones das Américas, enquanto que as espécies do subgênero *Leishmania* encontram representantes tanto nas Américas como no Velho Mundo.(49, 50) (Fig. 4)

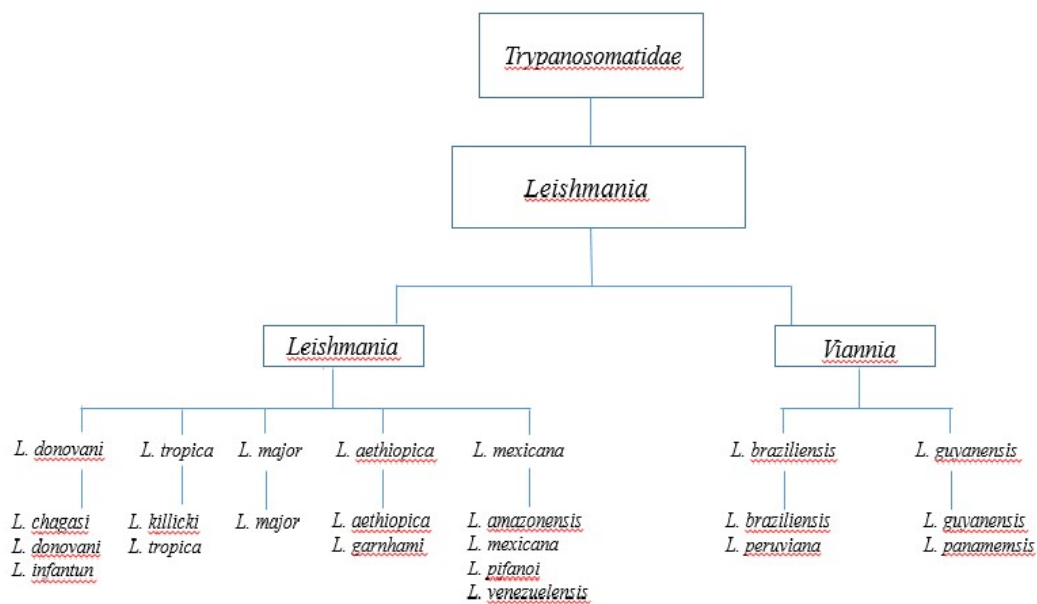


Fig. 4: Taxonomia da *Leishmania* – adaptado de Ministério da Saúde, 2007(50)

A LV, causada pela *L. donovani*, na África e na Ásia, e pela *Leishmania infantum* (syn: *L. chagasi*) nos países Mediterrâneos, Oriente Médio, Ásia central e América Central e do Sul, constitui a forma mais grave, muitas vezes fatal da doença.(44, 47, 48, 51) Enquanto os principais agentes da leishmaniose cutânea no Velho Mundo são *Leishmania tropica* e *Leishmania major*, e no Novo mundo *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis* e *L. panamensis*.(52) Excepcionalmente, espécies dermatrópicas podem visceralizar e levar a essa forma de doença, particularmente em pacientes imunossuprimidos.(51) Essa forma de leishmaniose é chamada viscerotrópica, e um de seus principais agentes é a *L. tropica*.(52)

1.1.5.3 Patogênese

A interação de respostas inflamatória e regulatória delimitadas pela resposta imune direciona a expressão da leishmaniose, podendo resultar em infecção assintomática, auto resolução ou doença crônica. A patogênese segue um painel complexo de interações entre fatores ativados pelas respostas imunes inatas e adquiridas do hospedeiro, que são fortemente influenciados por alguns aspectos como o perfil genético do hospedeiro, a espécie infectante, dose e sítio de inoculação e componentes da saliva do vetor.

Apenas 2-3% dos indivíduos infectados pelo subgênero *Viannia* (*L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis*, *L. peruviana*) desenvolvem lesões de pele, e menos que 10% daqueles infectados por *L. donovani* ou *L. infantum* desenvolvem leishmaniose visceral ativa.(53)

A infecção humana tem seu início logo após a inoculação das formas promastigotas na pele. A partir deste momento, inicia-se um processo de escape do parasita ante os fenômenos locais de defesa do organismo na pele, que quando vencidos pelo parasito, resultará em sua fagocitose pelas células do sistema fagocítico mononuclear, principalmente macrófagos.

A presença de formas promastigotas ativa o sistema complemento através da via alternada, e a maioria delas é destruída pela ação lítica do complemento. Entretanto formas promastigotas metacíclicas infectantes apresentam cobertura em sua membrana citoplasmática constituída, principalmente, de moléculas de glicoconjugados e glicoproteínas, como por exemplo a gp63, favorecendo a fixação do complemento e funcionando como uma barreira de proteção contra o mesmo. Seguindo-se essa etapa, o parasito se adere à membrana do macrófago através de receptores presentes na membrana plasmática do macrófago que se ligam às moléculas expostas na membrana das formas promastigotas, chamadas ligantes do parasito.

Estabelecida a adesão do parasito à membrana, a fagocitose é um processo relativamente rápido, sendo em geral, acompanhado pela ativação de mecanismos microbicidas do macrófago, como produção de metabólitos do oxigênio, hidrolases lisossomais, baixo pH e proteínas catiônicas.

Recentemente, uma segunda interpretação de interação *Leishmania*-neutrófilo-macrófago foi proposta para conceber a entrada do parasito no macrófago. Segundo essa linha, o parasito seria fagocitado por neutrófilos, primeiras células a chegarem ao sítio da infecção, no interior dos quais se transformaria na forma amastigota. Estas, quando capazes de resistir à ação dos produtos

de metabolismo dos neutrófilos, permaneceriam viáveis até serem fagocitadas pelos macrófagos, juntamente com os neutrófilos em processo genético de apoptose.(54, 55)

Estudos recentes apontaram as células dendríticas da derme como as principais responsáveis pela estimulação antígeno-específica com posterior ativação das células T. O conceito atual predominante é que algumas formas amastigotas são fagocitadas pelas células dendríticas dérmicas, que apresentam forte expressão fenotípica do complexo maior de histocompatibilidade, MHC classe II e MHC classe I, o que as torna principais células apresentadoras de antígenos parasitários espécie-específicos para a resposta imune de células T, CD4 e CD8, respectivamente. Assim, elas são responsáveis não só pela ativação da resposta imune inata (primária), que se inicia na pele, como também pela resposta imune adquirida (secundária), a qual se efetua no nível do linfonodo mais próximo do sítio de infecção.

Ainda na derme, as células dendríticas dérmicas, estimuladas pelos antígenos do parasito, são capazes de produzir IL-12, que sensibiliza as células *natural killer* (NK) a produzir interferon (IFN)- δ , o qual tem importante papel na ativação do macrófago parasitado. Ao mesmo tempo, elas são capazes de processar e apresentar os antígenos parasitários para linfócitos Th0, em repouso, e linfócitos B no linfonodo drenante mais próximo do sítio de infecção.

A resposta imune que se desenvolve a seguir depende fortemente do perfil imunogenético do indivíduo infectado: em indivíduos geneticamente resistentes, haverá uma expansão predominante da resposta imune de células CD4/Th1, com importante produção de IL-2, IL-12, IFN- δ e TNF- α , os quais apresentam importante papel na ativação do macrófago infectado, que resulta na produção de óxido nítrico e subsequente eliminação do parasito intracelular.(53, 56, 57)

Por outro lado, nos indivíduos suscetíveis, há uma expansão primordial da resposta imune de células TCD4/Th2, com significativa produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que inibirão a função imunológica do INF-g e, conseqüentemente, desativarão o macrófago, resultando em proliferação das formas amastigotas e aparecimento da doença.(56, 57)

Entretanto, vários paradoxos ainda existem a respeito do papel da resposta imune na imunoproteção e imunopatologia da leishmaniose. Por exemplo, embora a resposta Th1 e a produção de citocinas pró-inflamatórias sejam pivotais na imunoproteção, sua produção excessiva vai levar concomitantemente a quadros mais destrutivos de leishmaniose mucocutâneo. Indivíduos infectados por *L. braziliensis* que não desenvolvem a doença, tendem a apresentar

menos IFN- δ e TNF.(58) Por outro lado, o desenvolvimento da resposta Th2 é associado a persistência de parasitas no sítio da lesão, mas a produção de citocinas anti-inflamatórias em baixos níveis também diminui a inflamação e acelera o processo de cicatrização tecidual.(53, 56) Estudos mostraram que a ausência da regulação de Th1 mediada por Il-10 é mais importante para o desenvolvimento da doença por *L. braziliensis* que a própria polarização Th2. Altos níveis de IL-4 não foram observados em pacientes com leishmaniose cutânea difusa grave, sugerindo que a resposta Th2 pode ter menos influência na progressão da doença em humanos que nos modelos animais.(59)

Além disso, outras células T, como as células Th17 e as células T regulatórias (Treg), ao produzirem citocinas regulatórias, contribuem na progressão da doença ou regressão, dependendo dos antígenos espécie-específicos dos parasitos pertencentes aos dois subgêneros e do perfil genético do hospedeiro.(56)

De um modo geral, a célula T reguladora constitui subpopulação de células TCD4+CD25+Foxp3+ que regula as respostas imunes, inata e adquirida, e, por consequência, tem habilidade de controlar os efeitos excessivos e mal direcionados da resposta imune, assim com manter a homeostase da resposta imune, através da interação célula-célula e/ou pela produção de citocinas, tais como Il-10 e TGF- β . O papel da célula T reguladora na resposta imune da leishmaniose tem sido avaliado, principalmente nas infecções experimentais de *L(L) major* no camundongo geneticamente definido BALB/c, mostrando um papel supressor sobre a resposta Th1 e favorecendo a sobrevivência dos parasitos.

As células Th17 foram recentemente identificadas como tendo um papel essencial no controle contra determinados patógenos extracelulares, influenciando o balanço entre citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias.(60, 61)

A diferenciação das células Th17 é mediada pela ativação de células T *naïve* na presença da combinação de TGF- β , IL-6, IL17 e IL-23. O TGF- β tem papel importante no desenvolvimento, diferenciação e manutenção das células Th17. Apesar disso, já foi observado que estas células podem ser geradas mesmo na sua ausência, de maneira alternativa. A abundância de TGF- β com relativa falta de IL-23 favoreceria a geração de células Th17 clássicas, enquanto a presença pura de IL-23 promoveria o desenvolvimento de células Th17 alternativas. Os fatores transcricionais expressos de forma diferente pelas células Th17 clássicas e alternativas, levam a expressão de

citocinas diferentes e funções efetoras diferentes. Quando os dois tipos de células são comparadas, as células Th17 alternativas parecem bem mais patogênicas que as clássicas.(53)

O papel efetor da IL-17a na leishmaniose visceral baseia-se no acúmulo de neutrófilos, aumento da secreção de IFN- δ , aumento na produção de peptídeos antimicrobianos, proteínas de fase aguda, mucinas e metaloproteases da matriz. *L. donovani* e *L. infantum* estimulam a diferenciação de células Th17 no sangue periférico de indivíduos saudáveis, assim como a produção de IL-6 e IL-23 necessários para a manutenção de Th17. Um estudo de coorte de indivíduos com leishmaniose visceral mostrou que a IL-17 está fortemente associada a proteção, pelo aumento da quimiocina CXCL, importante quimiotático de neutrófilos e células Th1. Dessa forma, indivíduos naturalmente resistentes, mostram respostas IL-17 maiores, tenderiam a reagir mais rapidamente contra *L. donovani*, não apenas atraindo a resposta imune inata, mas também recrutando células Th1 para os tecidos.(62)

Níveis elevados de IL-17 também já foram encontrados na leishmaniose cutânea e mucocutânea, mostrando que a ativação de células Th17 pode ser gerada por *L. major*, *L. braziliensis*, *L. tropica*, *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis* e *L. naiffi*, agindo na ativação de macrófagos e no recrutamento de neutrófilos. Entretanto, estudos clínicos mostraram diferenças na resposta imune gerada pelo subgênero *Viannia* e *Leishmania*. Por exemplo, níveis mais elevados de IL-17 foram encontrados no soro de pacientes infectados por *L. (Viannia) guyanensis* quando comparados com *L. (Leishmania) amazonensis*. Além disso o papel da IL-17 nestas formas é paradoxal. Embora alguns estudos mostrem uma contribuição para a cura, com a depleção parasitária,(63) outros mostraram que a excessiva ativação e manutenção do Th17 pela presença de neutrófilos e Th1 tende a causar um bloqueio regulatório da secreção de IL-10, necessária para a suspensão da inflamação, o que ligaria a presença de IL-17 a quadros mais graves da doença.(64)

Concluindo, as citocinas apresentam papéis importantes na propagação celular e diferenciação em direção à defesa contra a *Leishmania*. Entretanto, o balanço de citocinas pró e anti-inflamatórias é necessário para garantir o controle da infecção e prevenir reações inflamatórias que prejudicariam a cicatrização tecidual. Além disso, elas atuam como uma rede, visto que diferentes citocinas apresentam efeitos sinérgicos ou antagônicos na reação imunológica contra a leishmaniose.(56) Uma resposta imune eficaz, que permita a eliminação do parasita, sem causar dano tecidual, requer um balanço entre o painel de citocinas secretadas na resposta celular,

iniciando-se com o reconhecimento do parasita por células apresentadoras de antígeno (APC) e apresentação de antígeno, produção de citocinas resultantes da diferenciação Th1, ativação de células Th1 produtoras de IFN- δ e TNF, e ativação macrofágica clássica, culminando na ativação de células Th2, que secretam IL-10 e bloqueiam a produção de óxido nítrico pelos macrófagos. A rede biológica que atua no equilíbrio entre o *clearance* parasitário e a preservação tecidual envolve a participação substancial de células T efetoras outras além das Th1 e Th2.(53) A figura 5 ilustra o ciclo do parasita e resume a ação das principais citocinas envolvidas na patogênese.

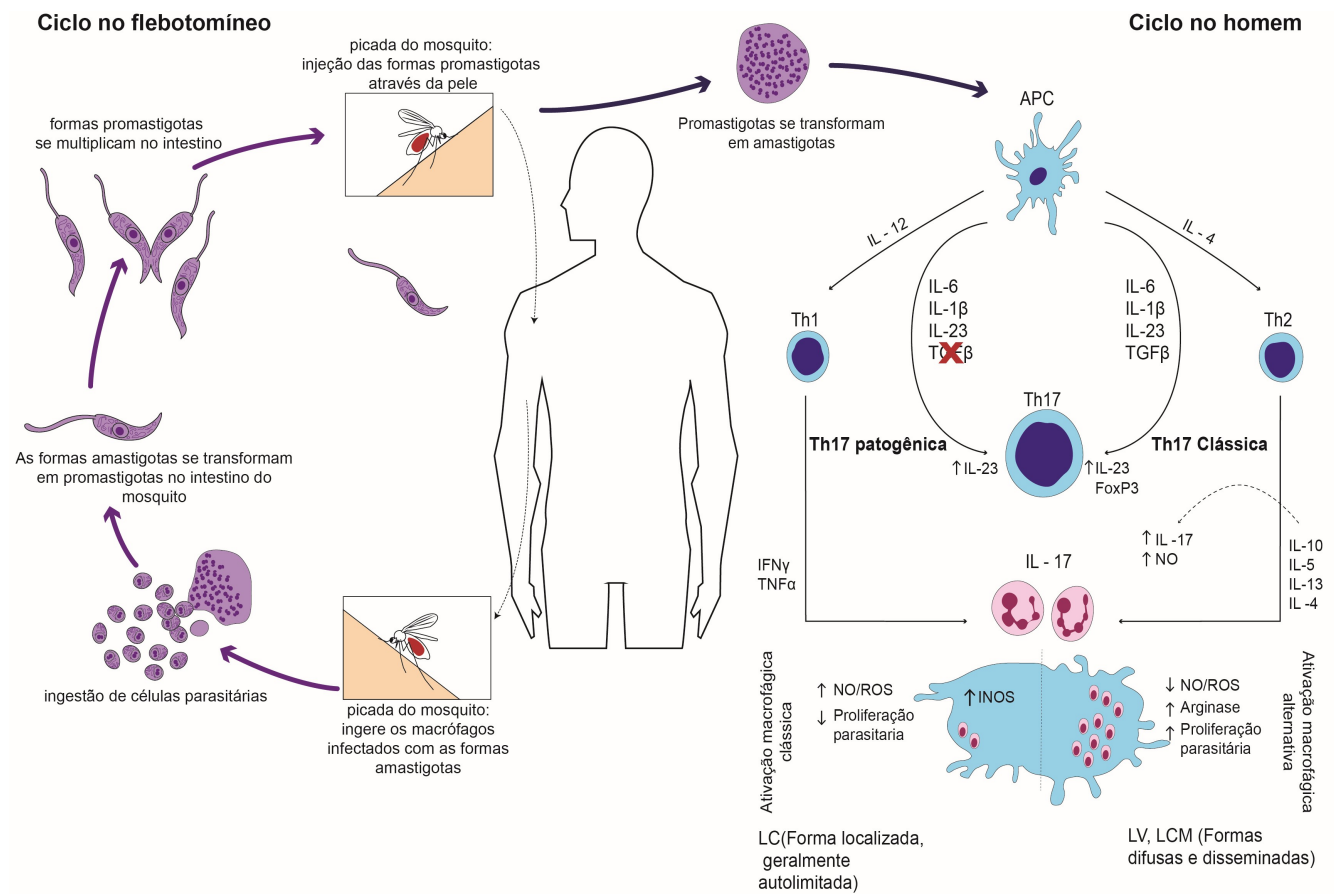


Fig 5: Ciclo da *Leishmania* e principais citocinas envolvidas em sua patogênese no homem.

1.1.5.4 Diagnóstico

O diagnóstico da leishmaniose ainda constitui tarefa difícil, uma vez que os testes atualmente disponíveis não apresentam acurácia suficiente para serem considerados “padrão ouro”. Por este motivo, geralmente utiliza-se uma combinação de dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais (exames imunológicos e parasitológicos) para se chegar ao resultado final (Fig. 6).(65) Os principais testes diagnósticos utilizam a detecção de resposta imune humoral ou celular à infecção de *Leishmania*, associado à presença do parasita ou de seu material genético. Os testes que detectam a resposta imune geralmente apresentam boa sensibilidade, porém baixa especificidade. Enquanto que o oposto é observado nos casos de detecção do parasita, que mostram alta especificidade, porém baixa sensibilidade. A biologia molecular parece ser uma ferramenta promissora, com boas especificidade e sensibilidade.(41)

Na leishmaniose visceral, o diagnóstico geralmente combina sinais clínicos a testes parasitológicos ou sorológicos. Nas formas cutâneas e mucocutâneas, os testes sorológicos apresentam valor limitado, uma vez que os anticorpos tendem a ser indetectáveis ou presentes em baixos títulos por resposta humoral pobre. Convencionalmente são obtidas 3-5 amostras de diferentes lesões ou diferentes partes da lesão; a primeira é utilizada para microscopia, e a última para cultura a fim de diminuir o risco de contaminação. A combinação de exame direto e cultura aumenta a sensibilidade para mais de 85%.(66)

Abaixo segue descrição dos principais métodos de diagnóstico laboratoriais disponíveis:

1. Teste de intradermoreação de Montenegro:

Com o objetivo de avaliar a resposta de hipersensibilidade celular tardia, o teste consiste na injeção intradérmica de uma solução contendo antígenos de promastigotas. Ele tende a mostrar positividade após 3 meses da infecção, apresentando falsos-negativos nos casos em infecções agudas recentes e em formas anérgicas, como a leishmaniose cutânea disseminada. O resultado é considerado positivo pelo aparecimento de pápula endurecida igual ou maior que 5 mm após 48 horas da aplicação do teste no antebraço anterior (Fig. 7). O teste foi amplamente usado para rastreamento inicial e diagnóstico da leishmaniose, porém recentemente no Brasil tornou-se

drasticamente indisponível em razão de regulamentações sanitárias. Caracteriza-se por ter alta sensibilidade (até 90%), especificidade ao redor de 75%, baixo custo e ser minimamente invasivo. A relativa baixa especificidade pode ser explicada pelo alto número de falsos-positivos em casos de infecção inaparente e reação cruzada com algumas patologias, como doença de Chagas, micoses subcutâneas, tuberculose e hanseníase lepromatosa.(41, 67)



Fig 6: Diagnóstico da leishmaniose tegumentar disseminada: Paciente apresentando lesões crostosas e ulceradas, disseminadas, cujo anatomopatológico mostrou presença de múltiplos parasitas, selando o diagnóstico de leishmaniose tegumentar disseminada. (acervo próprio)

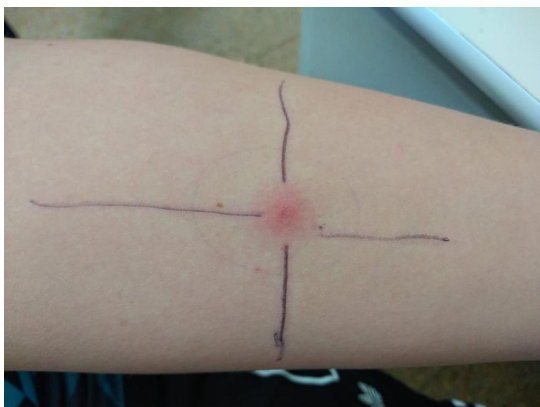


Fig 7: Teste de Montenegro positivo. Foto gentilmente cedida pela Dra. Carmem Dea.

2. Testes sorológicos:

Existem vários testes sorológicos para o diagnóstico da leishmaniose, dentre os quais destacam-se a imunofluorescência indireta (IFI), ensaio de imunoabsorção enzimática (*enzyme-linked immunosorbent assay* – ELISA), teste de aglutinação direta (TAD) e *immunoblotting* (*Western blot*). A IFI e ELISA são considerados altamente sensíveis, atingindo valores maiores que 90%, enquanto o *Western blot* se aproxima a 100%, embora a acurácia destes exames seja bastante variável entre os estudos. A baixa especificidade decorre da reação cruzada com outras doenças, como doença de Chagas, paracoccidiodomicose, pênfigo foliáceo e micoses profundas.(41, 68) Além disso, os anticorpos permanecem positivos por vários meses após a cura, e os testes não são capazes de diferenciar entre infecção atual e passada. Nas regiões endêmicas, pessoas infectadas assintomáticas podem apresentar testes positivos.(66) Na IFI, a resposta de anticorpos torna-se detectável muito precocemente na infecção e fica indetectável após 6-9 meses da cura. A persistência de anticorpos em baixos títulos pode indicar maior chance de recidiva.(66)

3. Exame direto:

O exame direto pode ser executado em uma ampla variedade de materiais, como aspiração e *imprint* de fragmentos excisados, lavados de mucosa oral ou nasal nas leishmanioses cutâneo ou mucosa, ou aspirado de medula óssea, baço, fígado e sangue periférico, na suspeita de leishmaniose visceral. A coloração pode ser feita por Giemsa, Wright ou Papanicolau. Possui a vantagem de ser de baixo custo, e quando positivo permite diagnóstico definitivo. Tem uma sensibilidade variável, entre 15-70%, dependendo do tempo da lesão, o que é considerado baixo, especialmente nas lesões com mais de 3 meses de evolução ou em formas crônicas hiperérgicas.

4. Exame histopatológico:

O exame histopatológico faz parte das ferramentas de rotina na dermatologia, e preferencialmente deve incluir a borda ativa da lesão na LTA, podendo ser realizado em outros materiais, como linfonodos, baço e medula óssea, na LV. Uma maior sensibilidade pode ser determinada pela associação de imunohistoquímica, como a marcação para anti-CD1a, uma glicoproteína transmembrana expressa por células apresentadoras de antígeno como as células de Langerhans. Observou-se que promastigotas cultivados são CD1a-negativos, mas que se tornam positivos após infecção.(69) A visualização de formas amastigotas não é fácil, especialmente em lesões

crônicas, e os achados clássicos incluem reação granulomatosa inespecífica, com infiltrado inflamatório rico em plasmócitos e linfócitos. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa exuberante pode ser observada, levando a diagnóstico diferencial com carcinoma espinocelular (Fig 8).

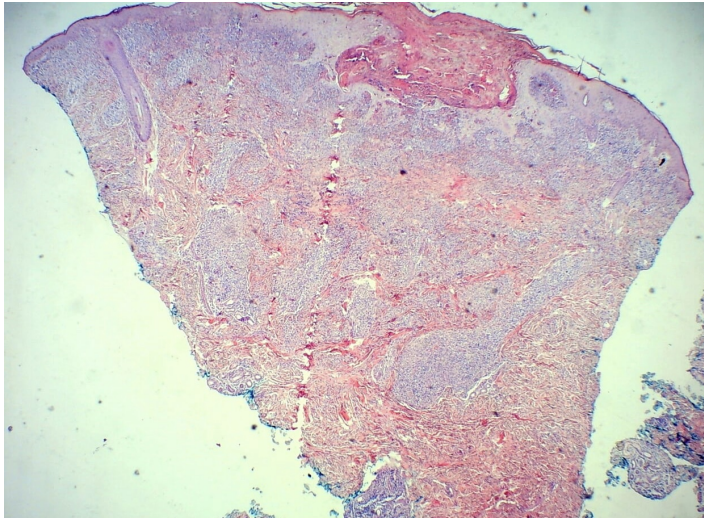


Fig 8: Anatomopatológico da lesão cutânea de leishmaniose, mostrando hiperplasia pseudoepiteliomatosa e infiltrado granulomatoso. (Foto gentilmente cedida pelo Dr. Takano)

5. Cultura:

Esse procedimento pode ser realizado *in vitro*, em meios como Neal, Novy, Nicolle (NNN) e Schneider, com sensibilidade entre 40-75%, e uma especificidade de quase 100%, aumentando a chance de positividade e segurança no diagnóstico. Entretanto, esse método raramente é usado na prática clínica, pela sua complexidade, alto custo e tempo prolongado para o resultado.(65)

6. Biologia Molecular:

O uso de biologia molecular no diagnóstico de leishmaniose é considerado promissor, por aliar uma alta sensibilidade e especificidade quando comparado a outros métodos. O material a ser analisado pode ser fragmento obtido por biópsia, escarificação da lesão, sangue, urina e *imprint* de lesão, dos quais o DNA pode ser extraído. O sangue periférico pode ser considerado uma amostra ideal por ter um caráter não invasivo, com sensibilidade entre 70-100%. Atualmente considera-se que há disseminação hematogênica e linfadematososa, e numerosos estudos de leishmaniose cutânea já mostraram DNA de *Leishmania* no sangue.(70-73)

A *Leishmania*, além do DNA nuclear, possui um genoma mitocondrial, chamado DNA cinetoplástico, que se organiza em milhares de minicírculos e algumas dúzias de maxicírculos ligados em rede. Esse material serve como alvo ideal para detecção de *Leishmania* com maior sensibilidade, permitindo detecção de até 5×10^{-4} parasitas por tubo de reação de PCR (reação em cadeia da polimerase) (até 0,00125 parasitas/ml de sangue).(74) Após o processo de extração, o DNA é purificado, de forma a eliminar proteínas e reagentes contaminantes, e posteriormente amplificado, uma vez que na maior parte dos casos sua quantidade é indetectável. A amplificação do DNA *in vitro* é obtida através de PCR, que consiste na replicação de pequena quantidade de DNA por uma enzima em reação com mudanças de temperaturas cíclicas, simulando a replicação fisiológica do DNA. O processo consiste de 3 fases:

- A dupla-fita de DNA extraída é separada em duas fitas simples, a 92-96°C, processo conhecido como desnaturação térmica. Cada fita servirá de modelo para cadeia amplificada de novas fitas.
- Oligonucleotídeos, conhecidos como *primer*, se ligam a uma área específica do DNA modelo, a 58-65°C, para dar início à amplificação da fita modelo
- A partir da enzima polimerase, novos nucleotídeos são adicionados, estendendo a sequência do *primer*, até completar a fita simples de DNA, duplicando a amostra inicial do DNA. Esses 3 passos são repetidos por várias vezes, de forma que uma multiplicação exponencial da quantidade inicial do DNA alvo é obtida. O último passo consiste na análise do produto amplificado e sua comparação com controles previamente estabelecidos através de eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida.

Uma PCR negativa pode ser encontrada em pacientes com resposta celular intensa e formação de granuloma. Essa reação imunológica é suficiente para diminuir a carga parasitária, reduzindo a

sensibilidade de exames parasitológicos e de PCR, apesar de não ser suficiente para a cura da doença.(75) Outro problema da PCR é que ela não diferencia organismos vivos e não-viáveis.(67, 68)

A PCR em tempo real (RPCR) agrega propriedades adicionais à técnica anteriormente descrita. A quantidade do material amplificado é monitorada durante o processo da reação em cadeia, em tempo real, através de *probes* ou reagentes que se ligam ao DNA replicado e emitem fluorescência. A medida que a reação progride, a fluorescência aumenta, permitindo uma análise quantitativa. A RPCR pode detectar parasitas em baixas quantidades em pacientes assintomáticos. Ainda não se sabe o real impacto desses pacientes para a transmissão da doença, embora alguns evoluam para a leishmaniose visceral.(67)

A biologia molecular também permite a identificação da espécie responsável pela infecção, embora isso seja limitado aos centros de pesquisa. O método chamado PCR-*restriction fragment length* (PCR-RFLP) é aplicado para confirmar o fragmento de ácido nucléico amplificado. Enzimas digestivas são usadas para clivar o DNA em determinados sítios, peculiar a certas espécies. Dessa forma, o produto da digestão é revelado e comparado com outros perfis moleculares previamente conhecidos. A análise das diferenças da temperatura *melting* (curva *melting*) na PCR em tempo real também permite a diferenciação dos subgêneros *L.(Leishmania)* e *L.(Viannia)*.(76)

1.1.6 Leishmaniose e Imunossupressão

Como citado anteriormente, a imunologia e a patogênese da leishmaniose são complexas, e na maior parte dos indivíduos, a infecção pela *Leishmania* não progride para a doença estabelecida. Em algumas áreas altamente endêmicas, mais de 30% dos habitantes podem apresentar infecção assintomática.(45) Embora os determinantes da progressão da doença ainda estejam apenas parcialmente compreendidos, a virulência parasitária, o estado nutricional, idade e genética do hospedeiro são fatores bem estabelecidos.(45, 46)

A imunossupressão é um dos principais fatores de risco ao desencadeamento e reativação da doença, sendo capaz de alterar a apresentação e a resposta ao tratamento. Embora a infecção pelo

HIV seja a condição mais estudada, outros quadros de imunossupressão têm apresentado associação crescente à leishmaniose, principalmente pelo uso cada vez maior das drogas imunomoduladoras. (46)

Pela presença cada vez mais frequente de relatos de casos associando o uso de drogas imunossupressoras com o desenvolvimento de quadros de leishmaniose, realizamos uma revisão sistemática, a fim de avaliar a associação da infecção com o uso de drogas utilizadas no tratamento de doenças autoimunes dermatológicas, reumatológicas e gastroenterológicas. (Apêndice A)

2 JUSTIFICATIVA



“A Primavera”, Sandro Botticelli (1482)
Têmpera sobre madeira, 203 cm × 314 cm
Galeria Uffizi, Florença

2 JUSTIFICATIVA

A supressão da imunidade celular causada por determinados tratamentos na psoríase e na artrite psoriásica pode levar ao desenvolvimento de infecções, como a leishmaniose, e relatos de casos desta infecção em pacientes em uso de drogas imunossupressoras são frequentes na literatura. Nos últimos anos, a escassez dos testes de intradermoreações tem dificultado o rastreamento deste protozoário como método de prevenção de reativação da doença por drogas imunomoduladoras. A PCR pode ser uma alternativa, por apresentar maior acurácia para o diagnóstico das doenças granulomatosas e por identificar diretamente o DNA do parasito e não a resposta imunológica do hospedeiro.

3 OBJETIVOS



“Portrait de Gérard de Lairesse”

Rembrandt Harmenszoon van Rijn (1665-67)

Óleo em tela, 112x87cm

Metropolitan Museum of Art, Nova Iorque

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

- Detectar o DNA de *Leishmania* no sangue de pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em tratamento com imunobiológicos, que residam em áreas endêmicas para leishmaniose, e comparar com amostras populacional semelhantes: a) que estejam em uso de drogas imunossupressoras não imunobiológicas, b) que não estejam em uso de drogas imunossupressoras (tópicos, acitretina, fototerapia e AINE) e c) população imunocompetente (acompanhantes de pacientes ou funcionários do HUB, sem doenças autoimunes e que não estejam em uso de drogas imunossupressoras).

3.2 Objetivos secundários

- Padronização de reação em cadeia da polimerase convencional para genes específicos de *Leishmania* no Laboratório de Dermatologia da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade de Brasília – UnB;
- Elaborar possíveis recomendações para o uso da PCR em pacientes que utilizam imunobiológicos.
- Comparar os resultados obtidos com a PCR com a sorologia (IFI para *Leishmania*)
- Descrever as características epidemiológicas dos pacientes atendidos nos ambulatórios de psoríase e artrite psoriásica do Hospital Universitário de Brasília.

4 PACIENTES E MÉTODOS



“A inspeção médica”

Henry de Toulouse Lautrec (1894)

Óleo em papel, 98 x 59 cm

National Gallery of Art, Washington DC

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Realizou-se um estudo transversal, no qual foram incluídos consecutivamente pacientes atendidos no ambulatório de Psoríase e de Artrite Psoriásica do HUB – UnB.

4.2 Duração do Estudo

Os pacientes foram avaliados entre janeiro de 2018 a dezembro de 2018.

4.3 População estudada

Foram incluídos pacientes com diagnóstico de psoríase e/ou artrite psoriásica. O diagnóstico de psoríase foi feito a partir de critério clínico determinado pela presença de placas eritemato-descamativas ou alterações ungueais características, tendo sido os pacientes avaliados e diagnosticados por médico dermatologista experiente, e/ou por exame anatomopatológico conclusivo de psoríase.(10) O diagnóstico de artrite psoriásica foi determinado pelos critérios classificatórios de CASPAR,(77) tendo sido as pacientes avaliadas pelo mesmo médico, reumatologista experiente.

4.4 Critérios de inclusão

- idade maior que 18 anos;
- capacidade de preencher o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice B);
- diagnóstico de psoríase realizado por Dermatologista e/ou diagnóstico de artrite psoriásica realizado por Reumatologista;
- no caso do Grupo Controle imunocompetente: não ser portador de psoríase, artrite psoriásica ou outra doença autoimune, e não estar em uso de drogas imunossupressoras sistêmicas, inclusive corticoesteroides.

4.5 Critérios de exclusão

- gravidez;
- diagnóstico de outras doenças autoimunes estabelecido previamente (lúpus eritematoso sistêmico ou outras colagenoses, vitiligo, artrite reumatoide, espondiloartropatia soronegativa, vasculites);
- diagnóstico de doença infecciosa crônica (viral, bacteriana ou outra), incluindo infecção pelo vírus da HBV, HCV e HIV;
- pertencentes à comunidade indígenas;
- incapacidade de compreender e preencher o TCLE;
- doença mental orgânica, funcional ou oligofrenia, que comprometam a qualidade da informação fornecida pelo paciente
- pacientes com diagnóstico definido de leishmaniose ativa no momento do estudo antes da PCR;
- No grupo controle imunocompetente: excluídos pacientes com diagnóstico de qualquer tipo de doença autoimune ou em uso de drogas imunossupressoras

4.6 Avaliação dos pacientes

Após a inclusão, os pacientes foram classificados e alocados em 4 grupos: 1 – imunobiológicos (pacientes com psoríase atualmente em uso de drogas imunobiológicas), 2 – imunossuppressores convencionais (pacientes com psoríase atualmente em uso de outros imunossuppressores sistêmicos), 3 – tratamento não imunossupressor sistêmico (pacientes com psoríase que usam anti-inflamatórios não esteroidais, acitretina, fototerapia e tratamento tópico) e 4 – grupo controle (sujeitos imunocompetentes).

Para cumprir com os objetivos, todos os pacientes passaram por avaliação, por meio de ficha clínica padronizada (Apêndice C) – que incluiu a coleta de dados de características gerais, avaliação clínica, e de fatores de risco para leishmaniose.

4.6.1 Características gerais

Na avaliação dos grupos, foram coletados inicialmente dados de identificação da paciente e características gerais, tais como idade, sexo, etnia, residência, naturalidade e procedência.

4.6.1.1 Idade

Registro da idade em anos no momento da avaliação do estudo, com base na data de nascimento fornecida e conferida no prontuário da paciente.

4.6.1.2 Gênero

Os pacientes foram classificados em gênero masculino e feminino.

4.6.1.3 Etnia

Pacientes foram questionados sobre sua etnia e divididos em cor branca, negra, parda e amarela, conforme avaliação utilizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).(78)

4.6.1.4 Residência

Foi registrado local de residência, com estado, e nos residentes do Distrito Federal (DF), com especificação da área administrativa, além do tempo de residência, em anos, no mesmo local.

4.6.1.5 Naturalidade e procedência

Registro da naturalidade, conforme informação do paciente.

4.6.2 Avaliação clínica

Na avaliação foi aplicada, inicialmente, uma ficha clínica em que se questionava sobre início dos primeiros sintomas na pele e articulações, forma clínica, tratamentos atuais e prévios, história patológica pregressa e tratamentos para outras condições mórbidas que não a própria psoríase / artrite psoriásica.

4.6.2.1 Dados da história clínica e exame físico

a) Manifestações clínicas

a.1) Duração dos sintomas

Registrou-se a duração (em anos) dos sintomas de psoríase e/ou artrite psoriásica.

a.2) História clínica

Registrou-se a forma clínica de diagnóstico (vulgar, gutata, palmoplantar, pustulosa ou eritrodérmica), conforme descrito no prontuário, além de história de prurido, acometimento de couro cabeludo, genital, ungueal e fatores de piora e melhora (sol, estresse.)

a.3) Tratamento

Foi observado se a paciente estava ou não em tratamento para psoríase, especificando-se, em caso afirmativo, droga em uso, dose e tempo, em anos, de tratamento.

Registraram-se também tratamentos prévios e tempo, em anos, dos mesmos.

b) História patológica pregressa

Registradas as informações fornecidas pelas pacientes com relação às condições mórbidas prévias e atuais, incluindo hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), dislipidemia e outras informadas no momento da avaliação inicial, assim como medicamentos em uso para tratamento destas. Foram registrados também história de etilismo crônico, definido como consumo de pelo menos uma dose de bebida alcóolica por dia.

4.6.2.2 Exame Físico

Foram registrados dados de circunferência abdominal (em centímetros), altura (em centímetros) e peso (em quilogramas), e posteriormente calculado o índice de massa corpórea (IMC).

4.6.2.3 Exame dermatológico

Os pacientes foram avaliados quanto à presença de lesões psoriásicas, ou seja, presença de lesões com base eritematosa, espessas e descamativas e sua localização, conforme definição clássica da doença.(10)

Também foi feita avaliação quanto à presença ou não de envolvimento ungueal, ou seja, ocorrência de lesões nas unhas incluindo depressões puntiformes irregulares, descoloração do leito ungueal “em manchas de óleo” e onicólise. Além disso, mudanças inflamatórias secundárias e menos específicas, como leuconíquia, espessamento ungueal e má formação distrófica da lâmina ungueal também foram buscadas.(10)

Os pacientes com diagnóstico de psoríase foram classificados quanto à forma da psoríase em vulgar, *gutata*, palmoplantar, pustular, eritrodérmica e ungueal,(10) bem como submetidas à avaliação quanto ao grau de envolvimento cutâneo e ungueal.

Para a avaliação da extensão do envolvimento cutâneo, foi utilizado o PASI (Anexo 1), padrão ouro para esse tipo de avaliação.(8, 14)

Para avaliação da extensão do acometimento ungueal, foi utilizado o NAPSI (Anexo 2).

A avaliação do impacto da psoríase na qualidade de vida foi feita através da aplicação do DLQI (Anexo 3).

Os indivíduos do Grupo Controle Imunocompetente foram avaliados quanto à presença de outro diagnóstico dermatológico, que não a psoríase, e cuidadosamente examinados para exclusão da possibilidade de psoríase / artrite psoriásica ou de outra doença autoimune.

4.6.2.4 Avaliação reumatológica

Os pacientes foram avaliados por reumatologista experiente quanto às manifestações articulares, como presença de dor/edema articular, dactilite, entesite, cervicalgia, lombalgia, diagnóstico de artrite psoriásica prévio ou de outras formas de artrite, presença de rigidez matinal maior que 1 hora, data do diagnóstico da doença e tipo de acometimento articular.

O exame clínico se baseou nas recomendações do GRAPPA e do OMERACT (*Outcome Measures in Rheumatology Clinical Trials*), que estabelecem o conjunto de domínios a serem avaliados nos estudos clínicos da artrite psoriásica,(25) e em seguida os pacientes foram classificadas conforme os critérios de Caspar.(77)

Nos casos suspeitos de artrite psoriásica, foram realizadas investigação laboratorial e radiológica, incluindo provas de atividade inflamatória, pesquisa de fator reumatoide, anticorpos antinúcleo (imunofluorescência direta), pesquisa de HLA-B27, sorologias virais quando pertinente (HIV, HBV, HCV), radiografia de mãos e punhos, radiografia de sacroilíacas e de outras possíveis articulações acometidas.

4.6.3 Avaliação do risco de leishmaniose

Além dos dados descritos, foram coletados também dados epidemiológicos como história familiar ou contato com portadores de leishmaniose, presença de animais domésticos e história de suspeita leishmaniose canina, atividades recreacionais de risco (contato com mata ou rio).

Registraram-se dados de clínicos de história progressiva de leishmaniose, com tipo (leishmaniose cutânea, mucocutânea ou visceral), ano do diagnóstico e tratamento (tipo e duração). Além de dados de suspeita da doença: presença de úlcera que não cicatriza e sintomas nasais como sangramentos, rinite e destruição de septo.

Após avaliação e inclusão no estudo, os pacientes passaram por coleta de sangue total por venopunção cubital.

As amostras foram processadas no Laboratório de Dermatômico da FM-UnB e separadas em duas partes, a primeira foi centrifugada para separação do soro para realização de sorologia e a segunda foi mantida para extração de DNA.

4.7 Extração de DNA

A extração do DNA das amostras foi realizada pelo kit comercial NucleoSpin® Blood (MACHEREY-NAGEL, GmbH & Co. KG, Düren, Alemanha). De cada amostra, foram utilizados 200µl de sangue em um microtubo de 1,5 ml, aos quais foram adicionados 20 µl de proteinase K e 20 µl de RNase. A solução foi mantida em repouso por 2 min e depois adicionado 200µl de tampão PureLink™ Genomic Lysis/Binding, homogeneizado fortemente com a amostra através de vórtex, por 5 s. Posteriormente a amostra foi colocada na incubadora a 55oC, por 10 min.

Para precipitação do DNA, foram utilizados 200µl de etanol absoluto gelado (-4°C), seguido de vórtex, a fim de se obter amostra homogênea. A solução foi então transferida para o tubo coletor com a coluna PureLink™ Spin e centrifugado a 10000 x g por 1 min, na temperatura ambiente,

seguido de 2 etapas de lavagem com centrifugação a $10,000 \times g$ por 1 min e a $15300 \times g$ por 3 minutos, ambas em temperatura ambiente. O tubo coletor foi descartado e a coluna foi colocada em um microtubo estéril de 1,5ml, ao qual foram adicionado 100 μ l de tampão PureLink™ Genomic Elution. A solução foi incubada por 1 min, e centrifugada a $15300 \times g$ por 1 minuto, em temperatura ambiente. Após esse processo, o DNA purificado era congelado em freezer -180°C .

4.8 PCR convencional para *Leishmania*

Para a reação de PCR, foram utilizados iniciadores específicos para as sequências do DNA mitocondrial de cinetoplastos da *Leishmania* spp. (kDNA) 5'-GGC CCA CTA TAC TAC ACC AAC CCC-3' e 5'-GGG GTA GGG GCG TTC TGC GAA-3', resultando em produto amplificado de 120 pares de bases, conforme descrito por Pita Pereira *et al.*(76) A reação foi realizada em um volume final de 50 μ l, contendo 31,4 μ l de água ultrapura; tampão da Taq a 1X; 1,5mM de MgCL₂, 0,2 mM de dNTP, 2.5U de Taq DNA, 0,16 μ M de cada primer e 5 μ l do DNA extraído da amostra. As reações foram amplificadas no termociclador T100™ (BIO-RAD®, Hercules, CA, USA). Os ciclos para amplificação seguiram desnaturação inicial por 4 minutos a 94°C , seguida por trinta e cinco ciclos: 94°C (30 segundos), 55°C (1 minuto), 72°C (1 minuto) e extensão final a 72°C (10 minutos). Toda reação incluiu controle negativo (água ultrapura) e 2 controles positivos formados por cultura lisada de *Leishmania (Viannia) braziliensis* e de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

Dois μ l do produto amplificado foi misturado a 2 μ l de preparado de xileno-cianol (Vetec®, Duque de caxias, Rio de Janeiro, Brasil) e 1,5 μ l (1:1000) de Gel Red (Biotium®, Harvard, CA, USA), sendo a seguir depositado em gel a 2% de agarose imerso em tampão TAE 1x. Um marcador de 120 bp foi utilizado (Invitrogen®, São Paulo, Brasil). Eletroforese foi realizada em tanque horizontal Sub-Cell® GT Cell 170-4403 (BIO-RAD®, Hercules, CA, USA) por 55 minutos a 100 V e 400mAmp. O gel foi visualizado em sistema de imagem EC3 (UVP®, Upland, CA, USA) (Fig.9).

As amostras positivas foram submetidas a uma segunda avaliação com PCR convencional para gene nuclear ITS-1 e kDNA seguida da digestão pela enzima de restrição HaeIII (PCR-RFLP), conforme previamente descrito.(41, 79)

A extração do DNA foi confirmada em todas as amostras negativas por PCR em tempo real qualitativo, usando-se primer C18X 343-bp 50-GAA AGT GCC AGA CCC GCC CCC-30 e 50-GCT GAA GCC ACC GCC ATAG-30, específico para queratina humana, conforme previamente descrito.(80)

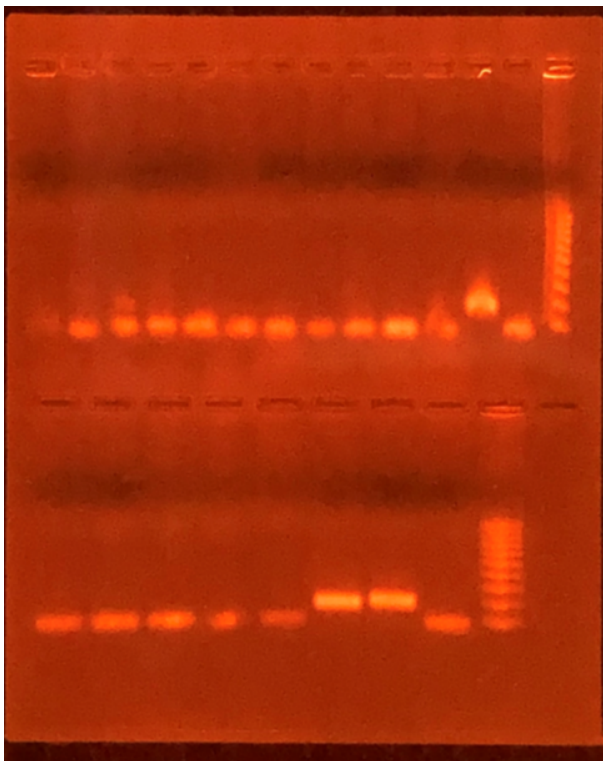


Fig. 9: Reação em cadeia da polimerase convencional: Eletroforese em gel de agarose mostrando os controles positivos e negativo (acervo próprio)

4.9 PCR em tempo real para *Leishmania*

Para a reação de RPCR, foram utilizados os mesmos iniciadores do convencional (5'-GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC-3' e 5'-GGG GTA GGG GCG TTC TGC GAA-3') (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). A reação foi realizada em um volume final de 10 μ L, composta por 1x PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), 1 mM de cada primer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), e 10ng do DNA extraído da amostra. A amplificação foi realizada com uma temperatura inicial de 95°C por 20 s, seguida de 40 ciclos de 95°C por 3s, 55°C por 10s e 60°C por 30s. A curva de dissociação foi processada através de incrementos de 0.3°C de 55°C a 95°C, a fim de se determinar a espécie infectante de *Leishmania*. A amplificação foi processada no QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Uma curva padrão foi determinada através de amostra triplicada de *Leishmania (Viannia) braziliensis* ($R^2=0.998$, eficiência=90.516, declínio=- 3.572). As reações utilizaram *L. braziliensis* (MHOM/BR/00/LTB300), *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) e *Leishmania (Leishmania) chagasi* (MCER/BR/79/M6445), como controles positivos, e DNA extraído de pele normal como controle negativo. (Fig. 10)

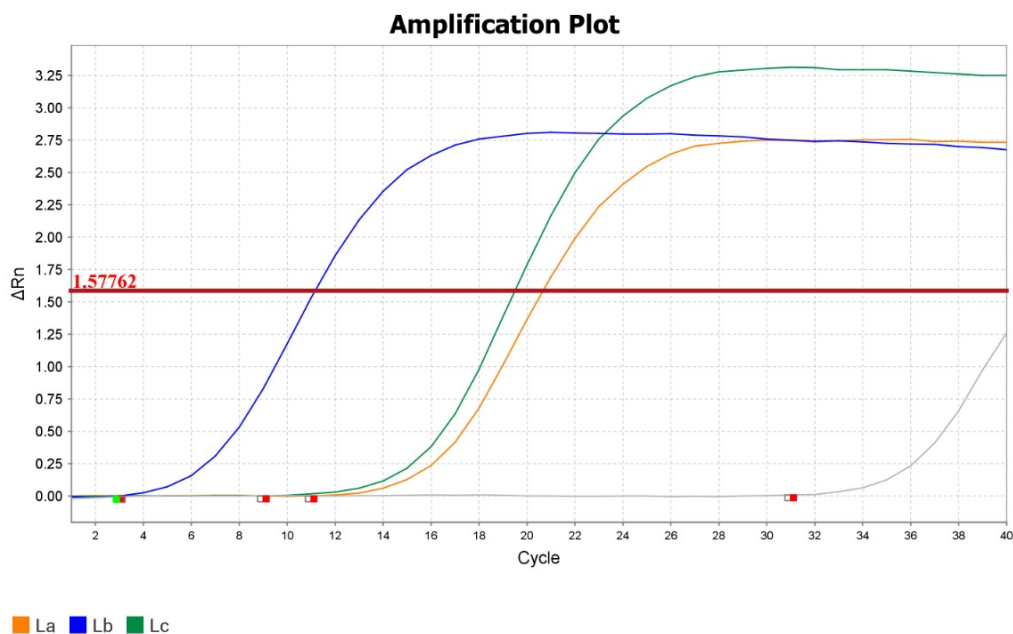


Fig. 10: Reação em cadeia da polimerase em tempo real - RPCR mostrando curvas controles positivos (amarelo – *L. amazonensis*; azul – *L. braziliensis*, verde – *L. chagasi*) e negativo (cinza -

água ultrapura). A linha vermelha na horizontal (*threshold*) é o limite estabelecido para definir a positividade. (acervo próprio)

4.10 Imunofluorescência Indireta

O soro foi separado e armazenado após centrifugação. As sorologias foram executadas pela empresa Diagnósticos do Brasil (DB diagnósticos, São José dos Pinhais, Brasil). A técnica utilizada baseia-se na pesquisa de anticorpos do tipo IgG presentes no soro dos pacientes avaliados. O material foi adicionado a cepas de *Leishmania donovani*. A reação foi evidenciada após adição de conjugado fluorescente que consiste em anti-IgG humano marcado, posteriormente avaliada por microscopia. A IFI foi considerada positiva em titulações iguais ou superiores a 1:40.

Todas as reações foram realizadas por pesquisador cego à condição dos pacientes e às características clínicas.

Todos os pacientes, com pelo menos um exame de triagem positivo, foram submetidos a uma avaliação complementar, analisando-se o hemograma completo, teste de proteína sérica total, relação albumina/globulina e exame ultrassonográfico abdominal gravado usando aparelho modelo Philips Affiniti 50G e Sonda convexa 6-2MHz, com ênfase na hepatimetria e mensuração do baço.

4.11 Tamanho da amostra

Foi realizado estudo piloto que mostrou uma prevalência de 2% de positividade na PCR convencional para *Leishmania* em pacientes imunossuprimidos. Pela raridade de resultados positivos, após discussão com estatístico, optou-se por incluir todos os pacientes em uso de

imunobiológicos e outros imunossupressores registrados nos ambulatórios de psoríase e artrite psoriásica no ano de 2017. Dessa forma, objetivou-se incluir amostras de sangue de indivíduos subdivididos em quatro grupos: a) 100 pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em fase de manutenção de drogas imunobiológicas; b) 100 pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de drogas imunossupressoras não imunobiológicas; c) 50 pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de tratamento não imunossupressor (tratamentos tópicos, acitretina, AINE); d) 50 indivíduos caracterizados como “imunocompetentes”, acompanhantes ou funcionários do HUB que não possuíssem doenças autoimunes e não estivessem em uso de medicamentos imunossupressores.

Além disso, de acordo com os quadros propostos por Bujang *et al.*,⁽⁸¹⁾ e considerando os dados-piloto, a provável prevalência de leishmaniose detectada por RPCR em nossa população-alvo era de 5% (considerando casos assintomáticos e doença ativa), $H_0 = 50\%$, $H_1 = 90\%$, potência $> 0,8$ e p -valor $< 0, 5$. Assim, o tamanho amostral mínimo foi fixado em 240 indivíduos. Como a prevalência de leishmaniose sofre influências diversas, um tamanho amostral maior que 300 foi considerado suficiente para fins de acurácia e triagem.⁽⁸¹⁾

4.12 Análise estatística

As variáveis categóricas foram comparadas por meio do teste do qui-quadrado ou do teste exato de Fisher. Os métodos de triagem foram comparados com o teste de McNemar. As variáveis numéricas foram comparadas por meio de testes ANOVA ou Kruskal-Wallis. Os resíduos foram calculados quando aplicável. O programa RStudio versão 1.1.456 foi utilizada para as análises.⁽⁸²⁾

Para testar o efeito das variáveis independentes sobre a ocorrência de exame positivo foram utilizados modelos de regressão de Poisson com variância robusta, obedecendo ao modelo hierárquico proposto (figura 11). Usou-se a regressão de Poisson porque ela fornece uma melhor estimativa das razões de prevalência, que por sua vez representam de forma mais significativa as medidas de efeito para estudos transversais.⁽⁸³⁾ A análise se deu em duas etapas: bivariada e

múltipla hierarquizada, em ambas, razões de prevalência, seus respectivos intervalos de 95 % de confiança foram calculados.

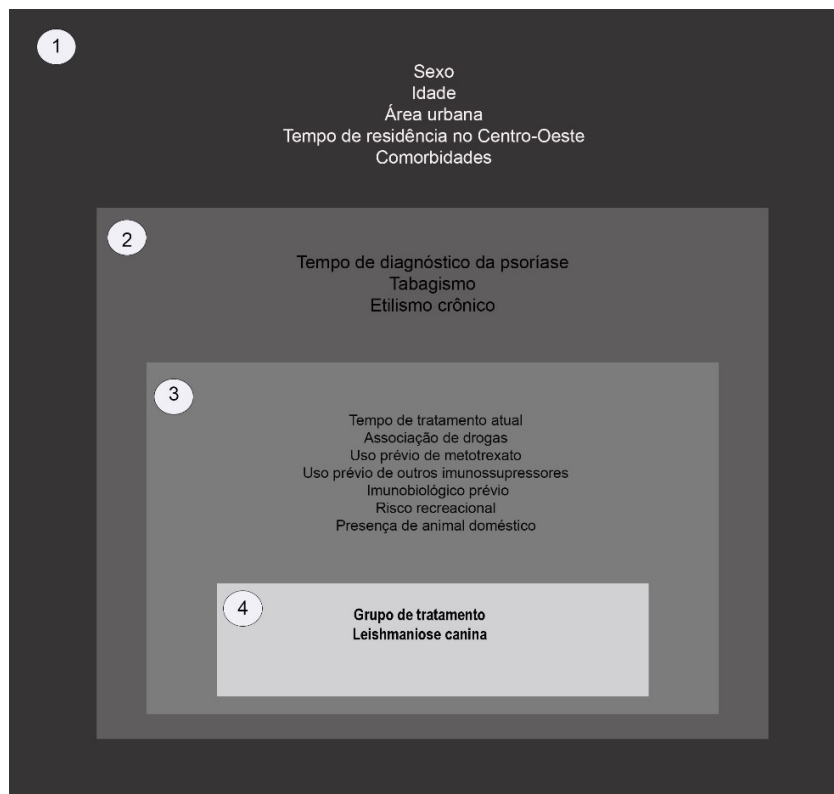
Na análise bivariada verificou-se a associação entre cada variável independente e o desfecho (ocorrência de exame positivo). Posteriormente, realizou-se a análise múltipla. Nessa etapa, dentro de cada nível hierárquico, as variáveis com $p < 0,10$ foram consideradas fatores de ajuste para os blocos subsequentes.(84)

Multicolinearidade entre as variáveis independentes foi avaliada. Considerou-se como limite da presença de multicolinearidade se o indicador de tolerância assumia valores menores que 0,403. Considerou-se significativo $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 95% (IC). As análises foram conduzidas pelo aplicativo SAS 9.4.(85)

As variáveis independentes coletadas foram: (a) Bloco 1: idade (≤ 50 ; > 50 anos); mora no plano piloto (Não; Sim); tempo de residência (≤ 40 ; > 40 anos); sexo (masculino; feminino); comorbidades associadas (Não; Sim); (b) Bloco 2: tempo de diagnóstico de psoríase (≤ 4 ; > 4 anos); tabagismo (Não; Sim); etilismo (Não; Sim); (c) Bloco 3: tempo de tratamento atual (por mais de 5 anos); associação a outra droga; MTX prévio; outros imunossupressores; imunobiológicos prévios; contato mata-rio; presença de animais domésticos (todas respostas do tipo sim ou não);(d) Bloco 4: agrupamento (controle; imunobiológico; imunossupressor convencional; não imunossupressor); suspeita de leishmaniose canina (Não; Sim).

As variáveis do bloco 1, compõem a primeira etapa de análise. Os fatores relativos as variáveis do bloco 2 a segunda etapa, as variáveis do bloco 3 a terceira etapa e as variáveis do bloco 4, quarta etapa de análise.

Fig. 11: Modelo de regressão



4.13 Ética

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FM-UnB (Anexo 4 - número de homologação CAAE: 72312117.4.0000.5558), de acordo com a declaração de Helsínque e sua atualização 2013. Todos os pacientes foram incluídos após a assinatura do TCLE.

5 RESULTADOS



“O Grito”, Edvard Munch (1893)

Óleo e pastel sobre cartão, 91x73.5 cm

Galeria Nacional, Oslo

5 RESULTADOS

5.1 Perfil epidemiológico dos pacientes

5.1.1 Tamanho da população

Foram avaliados 311 pacientes: 96 portadores de psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de imunobiológicos, 94 em uso de imunossupressores convencionais (todos os pacientes avaliados usavam metotrexato), 69 em uso de tratamentos não imunossupressores e 52 indivíduos classificados como imunocompetentes.

5.1.2 Gênero

Nos pacientes com psoríase, a proporção de homens e mulheres foi semelhante: no grupo dos imunobiológicos, 52 pacientes eram homens e 44 eram mulheres; no de imunossupressores convencionais, 49 pacientes eram homens e 45 eram mulheres; e entre os pacientes com psoríase sem tratamento imunossupressor sistêmico, foram incluídos 30 homens e 39 mulheres. O grupo controle imunocompetente apresentou um número maior de mulheres (35 mulheres e 17 homens).

5.1.3 Idade

A idade variou entre 77 e 25 anos, com média de 51,06 (DP 11,84), no grupo de pacientes com imunobiológico. No grupo de imunossupressores convencionais ficou entre 83 e 19 anos, com

média de 51,19, e entre 85 e 18 anos (média de 49,74) nos pacientes com psoríase sem imunossupressor sistêmico.

A idade média foi discretamente inferior no grupo controle imunocompetente (41,92), variando entre 68 e 20 anos.

5.1.4 Etnia

Em todos os grupos, houve um predomínio de pacientes brancos (55,2 % no grupo de biológicos, 47,9% no grupo de imunossupressores convencionais, 44,9% no grupo de psoríase sem imunossupressores sistêmicos e 48,1% no grupo controle imunocompetente), seguido de pardos (40,6% no grupo de biológicos, 41,5% no grupo de imunossupressores convencionais, 43,5% no grupo psoríase sem imunossupressor sistêmico e 42,3% no grupo controle imunocompetente). Apenas 3 pacientes foram classificados como amarelos no estudo: 1 no grupo de imunossupressores convencionais e 2 no grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico.

5.1.5 Residência

Em relação à residência, 2 pacientes do grupo de imunossuppressores convencionais residiam no Goiás e 1 na Bahia. Dois pacientes do grupo de biológicos, 4 do grupo de imunossuppressores convencionais e 3 do grupo controle imunocompetente residiam em Minas Gerais. Todo o restante, inclusive todo o grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico era do DF.

Dentro do DF, uma proporção discretamente superior de pacientes do grupo controle imunocompetente (16,67%) residia no plano piloto, e o tempo médio de residência nos grupos variou de 30,74 anos no grupo de biológicos a 27 anos, no grupo controle imunocompetente. Os dados epidemiológicos de cada grupo estão discriminados na tabela 1.

Em relação às regiões administrativas de residência, a maior parte dos indivíduos eram provenientes de Sobradinho (6,11%), Planaltina (7,07%), Ceilândia (7,39%), Taguatinga (7,39%), Gama (6,43%) e Samambaia (7,07%). Quatro pacientes residiam no Lago Norte, 5 em Brazlândia, 1 no Fercal e 1 no Jardim Botânico, áreas também consideradas endêmicas no DF.

5.1.6 Naturalidade

A maior parte dos pacientes, em todos os grupos, eram naturais do DF (30%), seguidos de MG (16%) e GO (10%). No grupo de imunossuppressores convencionais, o segundo estado de naturalidade da maior parte dos pacientes foi PI (11% dos pacientes do grupo).

5.2 Perfil clínico dos pacientes

5.2.1 Medidas antropométricas e índice de massa corpórea (IMC)

A circunferência abdominal média foi de 99,4cm no grupo de biológicos, 97,81cm no grupo de imunossupressores convencionais, 96,38 cm no grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico e 95,81cm no grupo controle imunocompetente, sendo a medida máxima, 140 cm e mínima, 51 cm (ambos do grupo imunossupressores convencionais).

A altura média foi de 166,74 cm no grupo biológicos, 165,07 cm no grupo imunossupressores convencionais, 163,20 cm no grupo psoríase sem imunossupressor sistêmico e 162,83 cm no grupo controle imunocompetente, sendo a medida máxima, 193 cm (grupo biológico) e mínima, 143 cm (grupo psoríase imunocompetente).

O peso médio foi de 79,21kg no grupo biológico, 77,92kg no grupo imunossupressores convencionais, 74,7kg no grupo psoríase sem imunossupressor sistêmico e 73,3kg no grupo controle imunocompetente, sendo a medida máxima, 180kg e mínima, 45kg (ambas do grupo psoríase imunocompetente).

O IMC médio foi semelhante nos 4 grupos (27,9 DP 5.1 nos imunossupressores convencionais; 27,9 DP 6.8 na psoríase sem imunossupressor sistêmico e 27,4 DP 5.4 nos controles imunocompetentes), sendo discretamente superior no grupo biológicos (28,4 DP 4.9 $p=0.79$). O percentual de pacientes com sobrepeso foi maior no grupo controle imunocompetente (44%, $p=0,02$ quando comparado com o grupo psoríase imunocompetente), porém esse também foi o grupo com menor percentual de pacientes classificados com obesidade (22% $p=0,015$ e $p=0,04$ quando comparado com o grupo de biológicos e psoríase imunocompetente, respectivamente). A fig. 12 mostra a distribuição (percentual) de pacientes com sobrepeso e obesidade nos 4 grupos. Entretanto é importante ressaltar o grande número de pacientes sem dados no grupo controle imunocompetente (16/52), quando comparado aos outros grupos (2/69 – grupo psoríase sem imunossupressão; 3/96 – biológicos; 4/94 – imunossupressores convencionais).

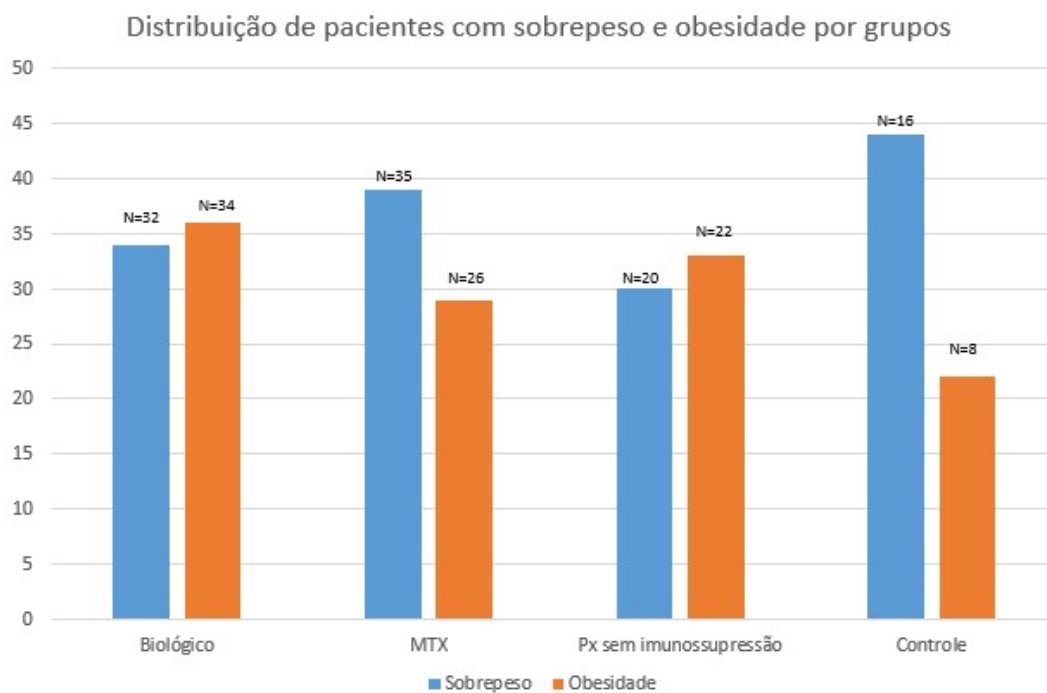


Fig. 12: Distribuição (percentual) de pacientes com sobrepeso ($IMC > 25$) e obesidade ($IMC > 30$), por grupos. MTX – grupo imunossupressores convencionais; PX sem imunossupressão – grupo de pacientes com psoríase sem imunossupressão sistêmica.

5.2.2 Tempo de diagnóstico da Psoríase

O tempo médio do diagnóstico de psoríase foi de 18,57 anos (máximo 48, mínimo 2 anos, DP 10,32) no grupo de biológicos; 16 anos no grupo de imunossuppressores convencionais e 12 anos no grupo de psoríase sem imunossuppressores sistêmicos.

5.2.3 Forma clínica da Psoríase

A forma clínica predominante foi a vulgar nos 3 grupos de pacientes com psoríase. No grupo biológicos, 8 pacientes apresentavam a forma eritrodérmica, 2 a forma *gutata*, 4 palmoplantar e 9 pustulosa (3 não tiveram a forma clínica registrada). No grupo de imunossuppressores convencionais, 2 apresentavam a forma eritrodérmica, 5 a forma *gutata*, 3 palmoplantar e 1 pustulosa. No grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico, 2 apresentavam a forma eritrodérmica, 4 pustulosa, 6 *gutata*, 6 palmoplantar.

O PASI médio foi 3,93 DP 5.93 (máximo 22,8 e mínimo 0) e o DLQI médio 4,89 DP 7.39 (máximo 29 e mínimo 0), no grupo de biológicos. No grupo de imunossuppressores, o PASI médio foi de 3,64 DP 4.13 (máximo 16,3 e mínimo 0) e DLQI médio 5,16 DP 5.80 (máximo 27, mínimo 0). No grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico, os parâmetros mostraram-se mais elevados, sendo 7,44, o PASI médio DP8.32 (máximo 34,9 e mínimo 0) ($p=0,00078$ quando comparado com grupo biológico e $p=0,00037$ quando comparado com grupo de imunossuppressores convencionais), e 8,25 DP7.74, o DLQI médio (máximo 26 e mínimo 0 – $p=0,0083$ quando comparado com o grupo de biológicos e $p=0,0119$ quando comparado com o grupo de imunossuppressores convencionais).

5.2.4 Acometimento de áreas especiais

No grupo biológicos, 57 pacientes apresentavam acometimento ungueal, com NAPSI médio de 2,54 DP6,25 (máximo 34 e mínimo 0). Setenta e quatro referiam história de acometimento do couro cabeludo e 47 de acometimento genital.

No grupo de imunossuppressores convencionais, 45 pacientes apresentavam acometimento ungueal, com NAPSI médio 3,35 DP7,10 (máximo 41 e mínimo 0). Setenta e oito referiam história de acometimento do couro cabeludo e 38 de acometimento genital.

No grupo de psoríase sem imunossupressão sistêmica, 26 pacientes apresentavam acometimento ungueal, com NAPSI médio de 1,61 DP4.59 (máximo 28 e mínimo 0). O acometimento do couro cabeludo esteve presente em 48 pacientes e da área genital em 27. Não houve diferença estatística entre os NAPSI ($p=0,19$).

5.2.5 Presença de prurido e fatores de piora e melhora da psoríase

O prurido esteve presente em 79% dos pacientes em algum momento da doença. Quarenta e nove por cento dos pacientes dos grupos com psoríase referia melhora do quadro cutâneo com exposição solar e 87% deles relatavam piora com situações de estresse.

5.2.6 Artrite psoriásica e outras comorbidades

Cinquenta e dois pacientes do grupo biológicos apresentavam também diagnóstico de artrite psoriásica, e 69 (72,6%) tinham diagnóstico de outras comorbidades.

Cinquenta e oito pacientes do grupo imunossuppressores convencionais eram portadores de artrite psoriásica associada, e 66 (70,9%) possuíam também outras comorbidades.

No grupo de pacientes com psoríase sem imunossupressor sistêmico, 27 pacientes tinham o diagnóstico de artrite psoriásica e 33 (47,8%) apresentavam história de outras comorbidades.

O grupo controle teve uma porcentagem menor de comorbidades (26,9% - 14 pacientes), sendo que em todos eles, as doenças mais prevalentes foram a hipertensão arterial, *diabete mellitus* e dislipidemia.

O tabagismo foi mais importante nos pacientes portadores de psoríase, e o etilismo foi superior no grupo dos pacientes com psoríase sem imunossupressão sistêmica.

A fig. 13 ilustra a presença, em percentual, das comorbidades nos pacientes dos 4 grupos.

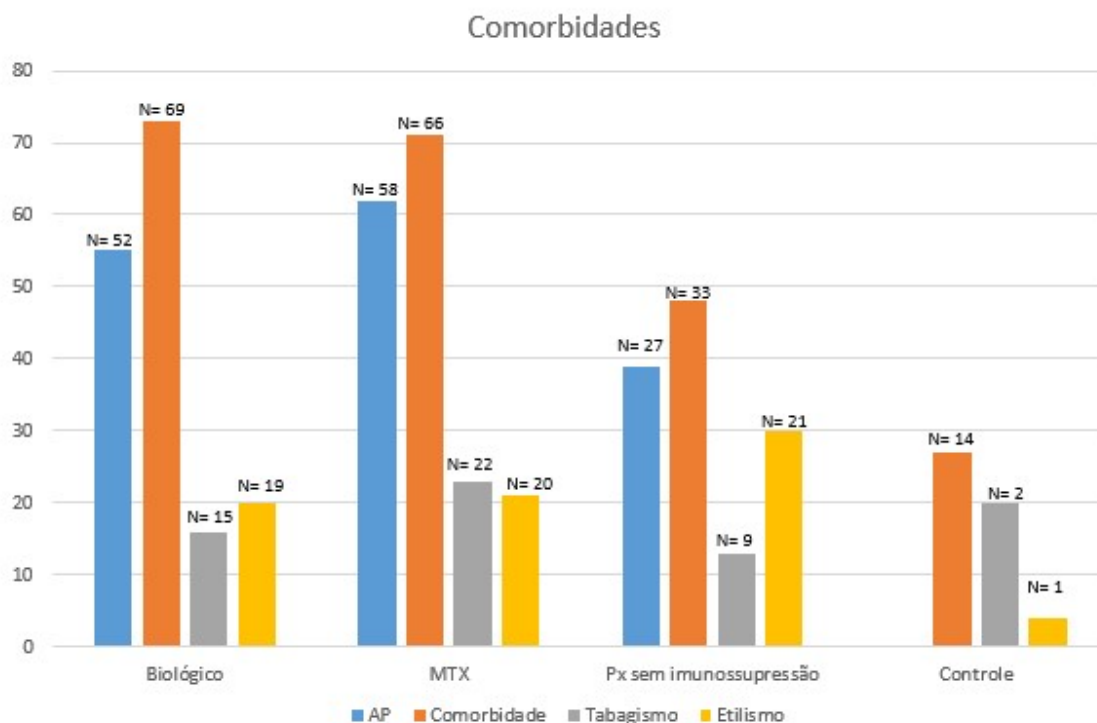


Fig. 13: Presença de comorbidades, em percentual, nos 4 grupos. MTX – grupo imunossuppressores convencionais, PX sem imunossupressão – grupo de pacientes com psoríase sem imunossupressão, AP – artrite psoriásica. Etilismo – consumo de pelo menos uma dose de bebida alcoólica por dia.

5.2.7 Tratamento

Em relação ao tratamento, no grupo de biológicos, 25 pacientes usavam infliximabe, 24 adalimumabe, 29 etanercepte, 9 ustequinumabe e 9 secuquinumabe, sendo que 16 desses pacientes tinham outro imunossupressor associado ao imunobiológico (metotrexato, leflunomida, corticoide).

O grupo de imunossuppressores convencionais teve como tratamento principal, o metotrexato.

No grupo de psoríase sem imunossupressão sistêmica, 8 pacientes estavam sem tratamento, 50 usavam tópicos, 6 usavam acitretina e 5 estavam em fototerapia. Não houve paciente com artrite psoriásica em tratamento apenas para o quadro articular.

A tabela 1 mostra as características do tratamento atual e prévios em cada grupo de forma detalhada e a fig 15 mostra a distribuição dos pacientes, por tratamento.

5.3 Avaliação do risco de Leishmaniose

5.3.1 Dados epidemiológicos de risco e história pregressa de leishmaniose

Apenas 1 paciente dos 311 avaliados apresentou história de leishmaniose. O paciente pertencia ao grupo de imunossupressores convencionais e havia apresentado leishmaniose tegumentar americana, tratada em 2014 com Glucantime®, não apresentando sinais de doença ativa nem resultados positivos nos exames de rastreamento para leishmaniose no momento do estudo. O diagnóstico de psoríase foi feito após o tratamento da leishmaniose, a lesão aparecendo como fenômeno de Koebner sobre a lesão da leishmaniose, e o início do uso do metotrexato também foi posterior ao tratamento da infecção.

Trinta e dois pacientes do grupo de biológicos apresentavam atividades recreativas consideradas de risco para leishmaniose (contato com rios e com mata), 53 apresentavam animais domésticos e 3 relatavam história de suspeita de leishmaniose canina em casa.

Dezenove pacientes do grupo de imunossupressores convencionais apresentavam atividades recreativas de risco para leishmaniose, 51 possuíam animais domésticos, entretanto nenhum relatou história de suspeita de leishmaniose canina.

Vinte e dois pacientes do grupo de psoríase sem imunossupressor sistêmico apresentavam atividades recreativas de risco, 34 possuíam animais domésticos e 2 relatavam história de suspeita leishmaniose canina.

Quatorze indivíduos do grupo controle imunocompetente apresentavam atividades recreativas de risco, 29 possuíam animais domésticos e 2 referiam história de suspeita de leishmaniose canina.

Os percentuais dos dados de risco epidemiológico para leishmaniose estão ilustrados na fig.14.

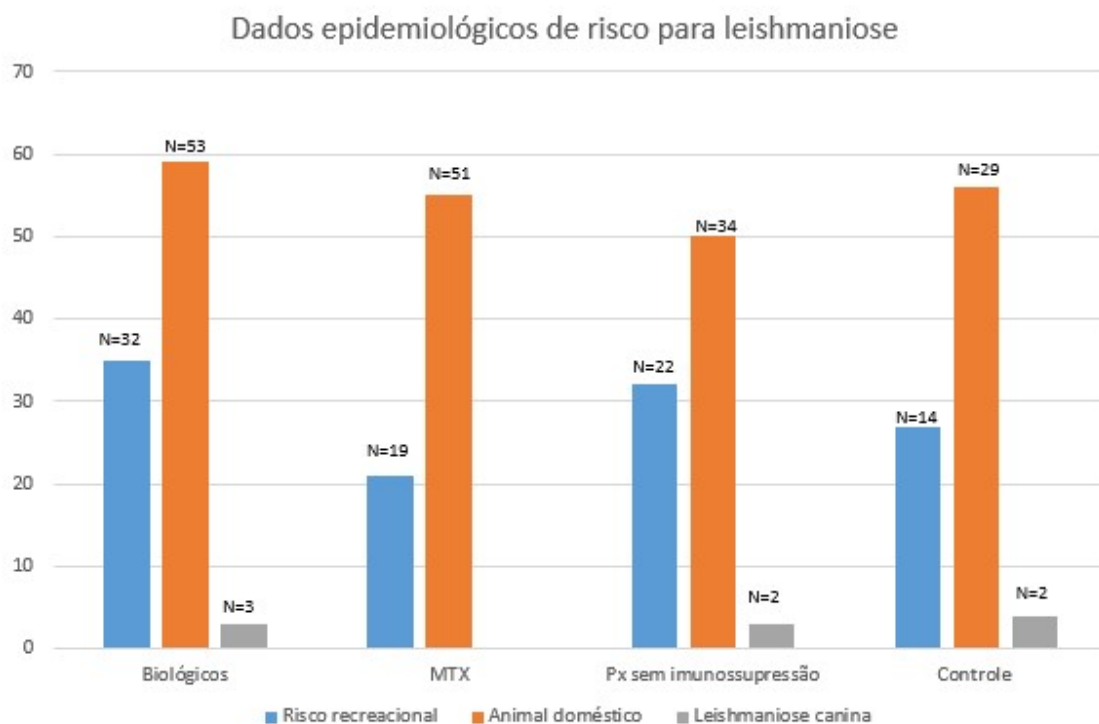


Fig. 14: Dados epidemiológicos de risco para leishmaniose nos 4 grupos. MTX – grupo de imunossupressores convencionais, Px sem imunossupressão – grupo de pacientes com psoríase sem imunossupressão sistêmica.

5.3.2 Resultados dos exames de rastreamento (PCR, RPCR e sorologia)

A PCR para *Leishmania* foi positiva em 13 pacientes: 2 pacientes com imunobiológico, 4 pacientes em uso de metotrexato, 3 pacientes com doença sem uso de imunossupressor e 4 indivíduos imunocompetentes.

A PCR convencional para ITS-1 seguida do RFLP foi negativa em todos os pacientes, o que impossibilitou a identificação do subgênero envolvido por este método.

A PCR convencional para kDNA seguida do RFLP indicou o subgênero *Leishmania Viannia* em 3 das amostras positivas (1 em uso de metotrexato, um biológico e 1 tratamento não imunossupressor), enquanto 4 mostraram *Leishmania Leishmania* (2 em uso de metotrexato, um em uso de tópico e 1 controle imunocompetente).

A RPCR foi positiva em 3 pacientes em uso de imunobiológico, 2 pacientes com psoríase sem imunossupressor e em 4 indivíduos imunocompetentes, sendo indicada *Leishmania braziliensis* em 8 pacientes (4 imunocompetentes, 2 não imunossuprimidos e 2 em uso de imunobiológico) e *Leishmania amazonensis* em 1 paciente em uso de imunobiológico.

A sorologia foi positiva em 1 paciente com imunobiológico, em 2 em uso de metotrexato, 2 em uso de tratamento não imunossupressor e 2 indivíduos imunocompetentes.

Nenhuma das positivities encontradas para IFI foi concordante para a positividade da PCR ou da RPCR. Quatro exames de PCR convencional coincidiram com a positividade da RPCR. (Fig 15)

A tabela 1 também mostra que a positividade foi semelhante entre os grupos considerando sorologia e PCR convencional. Na análise univariada, o número de exames positivos de PCR em tempo real foi maior na população de pacientes controle imunocompetentes ($p = 0.047$) em comparação aos pacientes que faziam uso de imunossupressores convencionais ($p = 0,015$). Não foi encontrada diferença estatística na comparação das 3 estratégias de triagem utilizadas: sorologia, PCR convencional ou RPCR utilizando-se o teste de McNemar ($p > 0, 5$).

A tabela 2 apresenta características clínicas e demográficas de todos os pacientes que apresentaram pelo menos um exame positivo. Nenhum paciente apresentou reação adversa relacionada aos exames complementares aplicados.

Fig. 15: Fluxograma com distribuição por grupos de tratamentos e resultados de exames encontrados

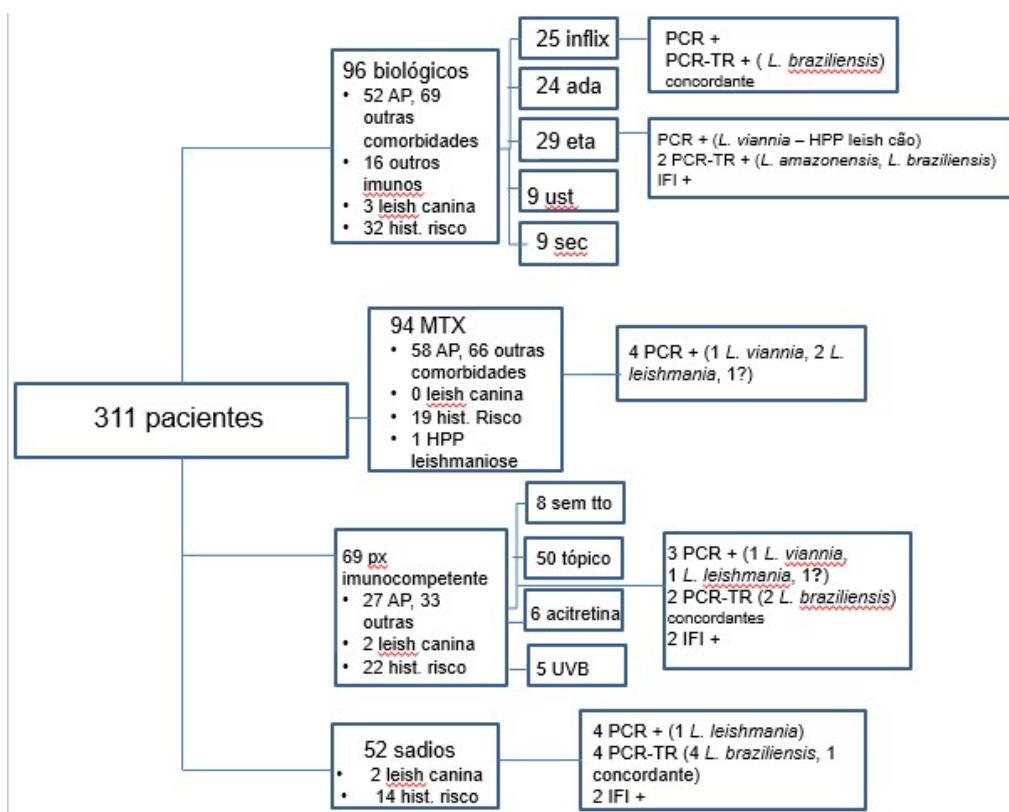


Tabela 1: Características demográficas dos pacientes incluídos

	Imunobiológicos	Imunossupressor convencional	Tratamento não imunossupressor	Grupo controle	p-valor
Sexo n(%)					
Masculino	52(54.17)	49(53.19)	30(43.48)	17(32.69)	0.057
Feminino	44(45.83)	45(46.81)	39(56.52)	35(67.31)	
Idade média (DP)	51.06(11.84)	50.19(14.72)	49.74(18.14)	41.92(12.65)	<0.001
Tempo de diagnóstico de psoríase (em anos) média (DP)	18.57(10.32)	16.01(11.44)	12.09(9.99)	0	<0.001
Área urbana n(%)	9(9.57)	8(9.20)	8(12.31)	8(16.67)	0.548
Artrite psoriásica n(%)	52(55.32)	58(61.70)	27(39.13)	0	<0.001
Tempo de residência no Centro-Oeste média (DP)	30.74(15.83)	29.36(17.14)	27.21(17.36)	26.85(13.60)	0.392
Comorbidade	69(72.63)	66(70.97)	33(47.83)	14(26.92)	<0.001
Tabagismo n(%)	15(16.13)	22(23.40)	9(13.04)	2(20.41)	0.017
Etilismo crônico n(%)	19(20.43)	20(21.28)	21(30.43)	1(4.08)	P<0.001
Associação de	16(16.67)	5(5.32)	1(1.45)	0	<0.001

drogas n(%)					
Uso prévio de metotrexato n(%)	83(86.46)	12(12.90)	30(43.48)	0	<0.001
Uso prévio de imunossupressor (outro que não metotrexato) n(%)	46(48.42)	10(11.11)	8(11.59)	0	<0.001
Contato com área de mata e rio n(%)	32(35.56)	19(20.88)	22(32.35)	14(27.45)	0.156
Animal doméstico n(%)	53(58.89)	51(55.43)	34(50.00)	29(55.77)	0.742
Suspeita de leishmaniose canina n(%)	3(3.33)	0	2(2.94)	2(3.84)	0.259
Sorologia n(%)	1(1.04)	2(2.15)	2(2.94)	2(3.85)	0.666
PCR convencional n(%)	2(2.08)	4(4.26)	3(4.35)	4(7.69)	0.448
PCR-TR n(%)	3(3.13)	0	2(2.9)	4(7.69)	0.047
PCR concordantes n(%)	1(1.04)	0	2(2.90)	1(1.92)	0.355
Ao menos um exame + n(%)	5(5.21)	6(6.38)	5(7.25)	9(17.31)	0.058

*McNemar test: PCR convencional x PCR-TR = 0.423; PCR x sorologia = 0.264; PCR-TR x sorologia = 0.803)

Tabela 2. Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com pelo 1 exame positivo

ID	TRATAMENTO	IDADE	ÁREA URBANA	SEXO	LEISHMANIOSE CANINA	SOROLOGIA	PCR	PCR-TR
15	Etanercepte	57	Não	F	Não	+	-	-
153	Etanercepte	40	Não	F	Sim	-	+	-
								<i>L. Viannia</i>
4	Etanercepte	53	Não	F	---	-	-	+
								<i>L. braziliensis</i>
178	Etanercepte	49	Não	M	Não	-	-	+
								<i>L. amazonensis</i>
291	Infliximabe	44	Não	M	Não	-	+	+
								<i>L. braziliensis</i>
18	Metotrexate	75	Não	F	Não	+	-	-
106	Metotrexate	59	Não	F	Não	+	-	-
137	Metotrexate	23	---	F	Não	-	+	-
								<i>L. Leishmania</i>
2	Metotrexate	49	Não	M	---	-	+	-
								<i>L. Viannia</i>

79	Metotrexate	71	Não	F	Não	-	+	-
131	Metotrexate	43	Não	M	Não	-	+	-
								<i>L. Leishmania</i>
10	Tópico	56	---	M	---	+	-	-
179	Tópico	50	Não	F	Não	-	+	+
								<i>L. Viannia</i> <i>L. braziliensis</i>
292	Tópico	67	Não	M	Não	-	+	+
								<i>L. braziliensis</i>
127	Tópico	62	Sim	F	Não	-	+	-
								<i>L. Leishmania</i>
155	Controle	62	Não	M	Não	+	-	-
189	Controle	48	Sim	M	Sim	+	-	-
223	Controle	23	Não	M	Não	+	-	-
187	Controle	51	Não	F	Não	-	+	+
								<i>L. braziliensis</i>
110	Controle	46	Não	M	Não	-	+	-
156	Controle	29	Sim	F	Não	-	+	-
								<i>L. Leishmania</i>

262	Controle	39	Não	M	Não	-	+	-
126	Controle	63	Não	M	Não	-	-	+
								<i>L. braziliensis</i>
288	Controle	33	Não	M	Não	-	-	+
								<i>L. braziliensis</i>
289	Controle	40	Não	F	Não	-	-	+

64 pacientes foram excluídos da análise multivariada por causa de dados ausentes.

Na análise bivariada (Tabela 3) observou-se uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de exame positivo e as seguintes variáveis: diagnóstico psoríase confirmado ≤ 4 anos (RP = 2,78; IC 95%: 1,15 - 6,75), tratamento atual há menos de 5 anos (RP = 3,09; IC 95%: 1,27 - 7,48), tratamento não imunossupressor em relação ao tratamento imunobiológico (RP = 4,47; IC 95%: 1,27 - 15,65), e suspeita de leishmaniose canina (RP = 5,60; IC 95%: 1,73-18,09).

O indicador de tolerância para multicolinearidade variou de 0,60 a 0,95, indicando que não existe forte multicolinearidade entre as variáveis independentes, dentro de cada bloco.

Na primeira etapa do modelo hierarquizado (bloco 1) foram introduzidas as variáveis: idade, mora no plano piloto, tempo de residência, sexo e comorbidade associada. Verificou-se que nenhuma apresentou uma associação significativa com a ocorrência de exame positivo. Nenhuma variável desse bloco foi mantida para a análise do bloco seguinte. (Tabela 4)

Na segunda etapa da análise de regressão de Poisson múltipla foram introduzidas, as variáveis pertencentes ao bloco 2: tempo de diagnóstico de psoríase confirmado, tabagismo e etilismo. Apenas a variável tempo de diagnóstico de psoríase confirmado apresentou associação significativa com a ocorrência de exame positivo. Após o ajuste pelas variáveis citadas acima, ela apresentou um acréscimo na associação (RP = 2,85; IC 95%: 1,19-6,80). As demais variáveis desse bloco mantiveram ausência de associação significativa com a ocorrência de exame positivo, observada na análise bivariada. A variável tempo de diagnóstico de psoríase confirmado foi mantida para a análise do bloco seguinte.

Na terceira etapa foram introduzidas, além da variável tempo de diagnóstico de psoríase confirmado, as variáveis do bloco 3. Apenas a variável tempo de tratamento atual apresentou associação significativa com a ocorrência de exame positivo. Após o ajuste pelas variáveis citadas acima, apresentou um decréscimo na associação 2,11 (1,08; 4,12) (RP = 2,11; IC 95%: 1,08 - 4,12). As demais variáveis desse bloco mantiveram ausência de associação significativa com a ocorrência de exame positivo, observada na análise bivariada. As variáveis tempo de diagnóstico de psoríase e tempo de tratamento atual foram mantidas para a análise do bloco seguinte.

Na última etapa foram introduzidas além do tempo de diagnóstico de psoríase e tempo de tratamento atual, as variáveis do bloco 4. Apenas a variável suspeita de leishmaniose canina, após o ajuste pelos possíveis confundidores, apresentou uma associação significativa com a

ocorrência de exame positivo (RP = 4,09; IC 95%: 1,13 – 14,76). Com relação a variável agrupamento, quando se compara a categoria tratamento não imunossupressor com tratamento imunobiológico, a mesma deixou de apresentar uma associação significativa com a ocorrência de exame positivo. As demais variáveis desse bloco mantiveram ausência de associação significativa, observada na análise bivariada, após o ajuste dos confundidores.

Tabela 3: Prevalência de exame positivo conforme variáveis estudadas

Variáveis	Frequência (n = 229)	Prevalência de exame Positivo (%)	IC 95 %
Idade			
≤ 50	118	9,32	4,04; 14,61
> 50	111	6,31	1,75; 10,86
Mora no Plano Piloto			
Não	199	7,54	3,84; 11,23
Sim	30	10,00	0,00; 20,82
Tempo de Residência			
≤ 40	158	6,96	2,96; 10,96
> 40	71	9,86	2,87; 16,85
Sexo			
Masculino	115	7,83	2,88; 12,77
Feminino	114	7,89	2,91; 12,88
Comorbidades Associadas			
Não	101	10,89	4,77; 17,01
Sim	128	5,47	1,50; 9,44
Diagnóstico Psoríase Confirmado			
≤ 4	71	14,08	5,93; 22,24
> 4	158	5,06	1,62; 8,51
Tabagismo			
Não	198	7,58	3,86; 11,29

Sim	31	9,68	0,00; 20,16
Etilismo			
Não	187	8,56	4,52; 12,59
Sim	2	4,76	0,00; 11,25
Tratamento Atual por mais de 5 anos			
Não	66	15,15	6,44; 23,87
Sim	163	4,91	1,57; 8,25
Associação Outra Droga			
Não	210	8,09	4,38; 11,81
Sim	19	5,26	0,00; 15,38
MTX Prévio			
Não	137	10,95	5,68; 16,22
Sim	92	3,26	0,00; 6,92
Outros Imunossupressores			
Não	178	8,99	4,75; 13,22
Sim	51	3,92	0,00; 9,29

Prevalência de exame positivo conforme variáveis estudadas (cont.)

Variáveis	Frequência (n = 229)	Prevalência de exame Positivo (%)	IC 95 %
Imunobiológicos Prévios			
Não	199	8,54	4,63; 12,46
Sim	30	3,33	0,00; 9,80
Contato Mata Rio			
Não	158	9,49	4,89; 14,10
Sim	71	4,33	0,00; 8,94
Animal Doméstico			
Não	103	6,80	1,90; 11,69
Sim	126	8,73	3,76; 13,70

Agrupamento			
Controle	42	7,14	0,00; 14,99
Imunobiológico	70	4,29	0,00; 9,07
Imunossupressor Convencional	70	4,29	0,00; 9,07
Tratamento Não Imunossupressor	47	19,15	7,81; 30,48
Suspeita Leishmaniose Canina			
Não	224	7,14	3,74; 10,54
Sim	5	40,00	0,00; 83,26

Tabela 4: Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalência bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta por níveis hierárquicos e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança.

Variáveis	RP Bruta		RP Ajustada*	
	RP (IC 95 %)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
1. Bloco				
Idade		0,4007		0,5919
≤ 50	1,48 (0,59; 3,68)	0,4007	1,39 (0,42; 4,62)	0,5919
> 50	1	-	1	-
Mora no Plano Piloto		0,6383		0,6931
Não	1	-	1	-
Sim	1,33 (0,41; 4,31)	0,6383	1,25 (0,41; 3,83)	0,6931
Tempo de Residência		0,4513		0,1672
≤ 40	1	-	1	-
> 40	1,42 (0,57; 3,50)	0,4513	1,98 (0,75; 5,21)	0,1672
Sexo		0,9846		0,9003
Masculino	1	-	1	-
Feminino	1,01 (0,42; 2,45)	0,9846	0,94 (0,37; 2,41)	0,9003
Comorbidades Associadas		0,1383		0,2131
Não	1,99 (0,80; 4,95)	0,1383	2,15 (0,64; 7,19)	0,2131
Sim	1	-	1	-

2. Bloco^b	1	-	1	-
Diagnóstico Psoríase Confirmado		0,0237		0,0184
≤ 4	2,78 (1,15; 6,75)	0,0237	2,85 (1,19; 6,80)	0,0184
> 4	1	-	1	-
Tabagismo		0,6843		0,3746
Não	1	-	1	0,3746
Sim	1,28 (0,39; 4,16)	0,6843	1,69 (0,53; 5,39)	-

Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalência bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta por níveis hierárquicos e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança (cont.).

Variáveis	RP Bruta		RP Ajustada*	
	RP (IC 95 %)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
2. Bloco(cont.)				
Etilismo		0,4223		0,5101
Não	1,80 (0,43; 7,52)	0,4223	1,61 (0,39; 6,57)	0,5101
Sim	1	-	1	-
3. Bloco^c				
Tratamento Atual por mais de 5 anos		0,0125		0,0277
Não	3,09 (1,27; 7,48)	0,0125	2,11 (1,08; 4,12)	0,0277
Sim	1	-	1	-

Associação Outra Droga		0,6670		0,9521
Não	1,54 (0,22; 10,93)	0,6670	0,93 (0,10; 8,56)	0,9521
Sim	1	-	1	-
MTX Prévio		0,0500		0,3064
Não	3,36 (1,00; 11,27)	0,0500	2,19 (0,49; 9,84)	0,3064
Sim	1	-	1	-
Outros Imunossupressores		0,2578		0,9124
Não	2,29 (0,54; 9,64)	0,2578	0,90 (0,14; 5,78)	0,9124
Sim	1	-	1	-
Imunobiológicos Prévios		0,3515		0,8385
Não	2,56 (0,35; 18,56)	0,3515	1,27 (0,12; 13,00)	0,8385
Sim	1	-	1	-
Contato Mata Rio		0,1889		0,2103
Não	2,25 (0,67; 7,52)	0,1889	2,11 (0,65; 6,81)	0,2103
Sim	1	-	1	-

Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalência bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta por níveis hierárquicos e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança (cont.).

Variáveis	RP Bruta		RP Ajustada*	
	RP (IC 95 %)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
3. Bloco(Cont.)				
Animal Doméstico		0,5901		0,4503
Não	1	-	1	-
Sim	1,28 (0,52; 3,19)	0,5901	1,41 (0,58; 3,42)	0,4503
4. Bloco^d				
Agrupamento		0,0230		0,6689
Controle	1,67 (0,35; 7,88)	0,5194	1,78 (0,39; 8,07)	0,4549
Imunobiológico	1	-	1	-
Imunossupressor Convencional	1,00 (0,21; 4,79)	1,0000	1,12 (0,24; 5,24)	0,8871
Tratamento Não Imunossupressor	4,47 (1,27; 15,65)	0,0192	5,64 (0,21; 151,24)	0,3029
Suspeita Leishmaniose Canina		0,0040		0,0313
Não	1	-	1	-
Sim	5,60 (1,73; 18,09)	0,0040	4,09 (1,13; 14,76)	0,0313

* Razão de Prevalência ajustada segundo os seguintes variáveis independentes, nos modelos múltiplos hierárquicos:

- a) Modelo1 = Idade + Mora PP + Tempo Residência + Sexo + Comorbidades Associadas
- b) Modelo2 = Diagnóstico Psoríase Confirmado + Tabagismo + Etilismo
- c) Modelo3 = Diagnóstico Psoríase Confirmado + Variáveis do Bloco 3
- d) Modelo4 = Diagnóstico Psoríase Confirmado + Tratamento Atual + Variáveis do Bloco 4

5.2.4 Avaliação dos pacientes com exames de rastreamento positivos

Nenhum paciente apresentou evidências de doença ativa seja ela compatível com LTA ou LV. A hepatimetria mostrou-se aumentada em 3 pacientes, 2 por esteatose hepática moderada e 1 pela presença de lobo de Riedel. (Fig. 16)

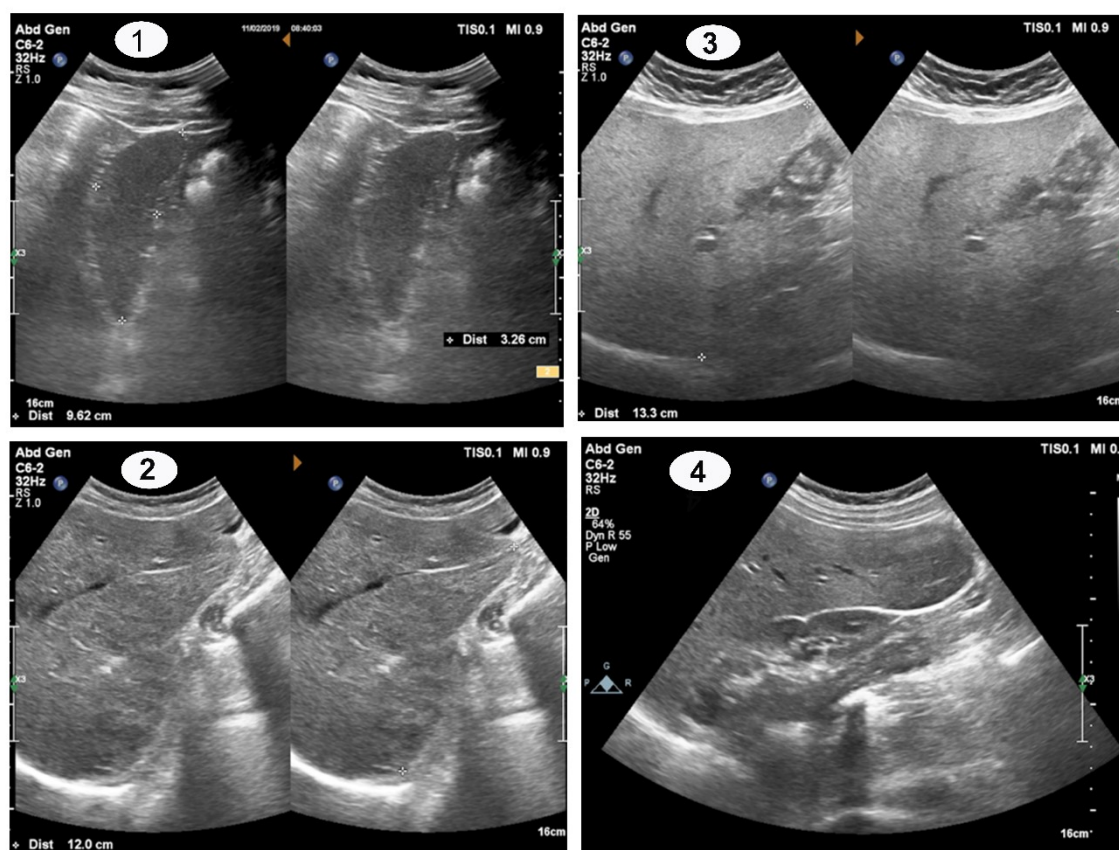
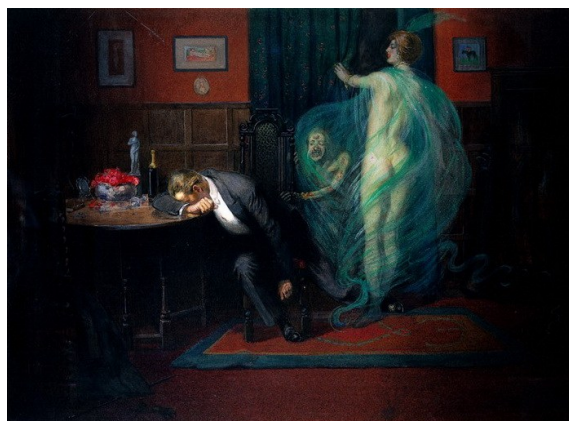


Fig. 16: Imagens ultrassonográficas mostrando: 1 – bço normal; 2- fígado normal; 3- esteatose hepática moderada; 4- lobo de Riedel

6 DISCUSSÃO



“Sífilis”, Richard Tennant Cooper (1912)

Wellcome V0017232.jpg 1,550 × 1,131; 823 KB

6 DISCUSSÃO

6.1 Perfil Epidemiológico dos pacientes

Em 2015, a região Nordeste registrou o maior número de casos de LV (1.806); seguida pelas regiões Sudeste (538); Norte (469); Centro-Oeste (157); e Sul (5). Em relação à LTA, a região Norte registrou o maior número de casos (8.939) dessa doença; seguida do Nordeste (5.152); Centro-Oeste (2.937); Sudeste (1.762); e Sul (493).(86)

No DF e entorno, as leishmanioses são consideradas endêmicas e em plena expansão geográfica. Desde o primeiro caso registrado em 2004 até 2015, houve a confirmação de 321 casos de leishmaniose visceral, com 16 óbito, sendo as regiões administrativas de Sobradinho e Brazlândia, os locais mais frequentes de infecção.(87) Quinze casos autóctones foram identificados nesse período, distribuídos nas regiões do Lago Norte, Lago Sul, Sobradinho, Jardim Botânico e Fercal, e a espécie isolada foi a *L. (Leishmania) chagasi*.(87, 88) Estudo de Sampaio & Dea avaliou 11 casos autóctones de leishmaniose mucocutânea no DF, sendo a maior parte dos pacientes proveniente de Planaltina e a cepa isolada de *Leishmania (Viannia) braziliensis*.(89)

Em 2018, a Secretaria de Estado de Saúde do DF (SES-DF) registrou 97 casos suspeitos de leishmaniose visceral, dos quais 26 casos foram confirmados, 13 de residentes do DF (sendo 2 autóctones) e 13 de outras Unidades da Federação. Quarenta casos de LTA foram registrado na região no mesmo período, 32 de residentes do DF e 8 de outras Unidades Federadas. Dos 40 casos confirmados, segundo o local provável de infecção, 26 são importados, um autóctone e 13 foram indeterminados. (90)

Quarenta e dois por cento dos pacientes incluídos eram naturais da região Centro-Oeste, 28% da região Nordeste e 20% da região Sudeste, não havendo diferença significativa entre os grupos. Além disso, apesar do dado de residência estar bastante distribuído pela região do DF, todos os grupos mostraram predominância por áreas administrativas com maior risco de leishmaniose, reforçando o risco de infecção por residência e procedência de áreas endêmicas.

6.2 Perfil Clínico dos pacientes

Embora grande número de indivíduos estivessem sem dados relativos ao IMC no grupo controle imunocompetente, houve diferença estatisticamente significativa quanto à associação de obesidade entre este grupo e os grupos de psoríase sem tratamento imunossupressor e de psoríase em uso de imunobiológico. A obesidade é uma condição crônica caracterizada pelo excesso de peso, podendo ser diagnosticada pelo IMC (peso em kg dividido pelo quadrado da altura em metros). A OMS classifica o IMC em adultos da seguinte forma: entre 18.5-24.9 normal, 25–29 sobrepeso, e IMC maior ou igual a 30 obesidade.(91)

A ligação entre autoimunidade e obesidade se tornou mais relevante pela descoberta de que o tecido adiposo é um órgão endócrino essencial, que secreta uma gama importante de mediadores envolvidos na regulação da imunidade, inflamação e do metabolismo. Embora o sobrepeso tenha se apresentado maior no grupo controle; em relação à obesidade, nossos dados estão compatíveis com a literatura.(91, 92) Os pacientes com psoríase apresentam uma maior tendência ao isolamento social, hábitos dietéticos ruins, depressão, baixa atividade física e aumento do consumo de álcool. Por outro lado, o estado de obesidade caracteriza-se pelo aumento da liberação de ácidos graxos livres pelos adipócitos brancos e pela secreção de mediadores pró-inflamatórios, como IL-6 e TNF- α , piorando a psoríase e muitas vezes dificultando seu tratamento.(91) É importante ressaltar ainda que o IMC elevado está negativamente correlacionado com a resposta imune protetora, de forma que indivíduos obesos apresentam maior susceptibilidade a infecções virais, bacterianas e fúngicas.(93)

Além disso, os pacientes com psoríase mostraram maiores taxas de comorbidades, tabagismo e etilismo, associações já bem descritas.(8, 94, 95) Dhana *et al* realizaram uma revisão sistemática, onde foi observado um aumento do risco geral de mortalidade nos pacientes com psoríase, em especial naqueles com doença grave. Dentre as causas específicas observadas, o estudo destacou aumento do risco de mortalidade cardiovascular, hepático, renal e por doenças infecciosas.(94) A fisiopatologia da associação entre psoríase e comorbidades, pode ser resultado de uma combinação de perfil genético, inflamação sistêmica, efeitos adversos das medicações usadas no tratamento da psoríase e prevalência aumentada de fatores de risco tradicionais, como tabagismo.(94, 96)

Os parâmetros de gravidade da doença, PASI e DLQI, foram estatisticamente piores no grupo de pacientes com psoríase sem imunossupressão sistêmica. Possivelmente isso decorre do fato

desses escores constituírem medidas que refletem o momento atual do paciente. Com isso, pelos resultados mais eficazes dos imunossupressores, uma porcentagem maior dos pacientes imunossuprimidos apresentava quadros mais leves no momento do estudo, muitas vezes com escores zero. Entretanto, pelos critérios adotados pelo Serviço de Dermatologia do HUB, conforme Sociedade Brasileira de Dermatologia,(10) para início de tratamento sistêmico, esses pacientes, provavelmente, apresentaram quadros extensos e graves antes do início da medicação, por vezes por períodos prolongados.

Outra característica interessante observada em nosso estudo foi o tempo de diagnóstico mais recente de psoríase (menor que 4 anos), o qual, na análise bivariada, mostrou-se importante para a ocorrência de positividade nos exames de rastreamento utilizados. Apesar dos muitos estudos dirigidos para o risco de infecções com o uso de medicações imunobiológicas, pouco se sabe sobre o risco intrínseco relacionado à presença da psoríase. Historicamente, considerase que ela teria um efeito protetor com base em pesquisas iniciais que identificaram um aumento de peptídeos antimicrobianos nas lesões cutâneas.(97)

Entretanto, em estudo recente, Takeshita *et al* (98) analisaram 199700 pacientes com psoríase e 954315 controles, observando uma associação entre a doença e um aumento do risco de infecções graves, principalmente nos quadros mais graves de psoríase, mesmo quando aqueles em uso de terapia imunossupressora eram excluídos. Essa observação é reforçada por outros autores.(40, 99)

O mecanismo fisiopatológico proposto pelos autores seria que a inflamação induzida pelo TNF e pela IL-17 levariam a uma disfunção imune subjacente. Sabe-se que os pacientes com psoríase apresentam um aumento de citocinas próinflamatórias séricas, e já foi demonstrado que níveis elevados de TNF e IL-6 antes do desenvolvimento da infecção estariam associados a um maior risco de pneumonia grave.(100) Dessa forma, apesar do papel importante que estas citocinas exercem na resposta inflamatória normal protetora contra patógenos, a superprodução de algumas delas, inclusive o TNF, poderia contribuir para invasão e para o início de algumas infecções.(98)

6.3 Grupamentos e risco de leishmaniose

As drogas imunossupressoras atuam em diferentes vias do sistema imune, e o risco de desenvolvimento de leishmaniose associado a estes tratamentos ainda não está bem esclarecido.(46) Conforme a revisão sistemática realizada pelo grupo, foram descritos 189 casos de leishmaniose associados ao uso de imunomoduladores, na literatura. Destes, 96 foram relacionados ao uso de imunobiológicos e 72 mostravam associação de drogas imunomoduladoras. Cento e cinco pacientes desenvolveram leishmaniose visceral, 65 leishmaniose cutânea e 14 leishmaniose mucocutânea. A maior parte dos casos teve como sítio provável de infecção o continente europeu, diferindo da distribuição mundial da leishmaniose, uma vez que a prevalência neste continente é de cerca de 2%. Outro resultado interessante foi que a maioria dos pacientes era portadora de doença autoimune reumática, provavelmente pela maior e mais prolongada imunossupressão a que estes pacientes são submetidos. Apenas 8 estudos de prevalência foram identificados durante a revisão, nestes a prevalência de leishmaniose variou entre 32 a 1282 casos por 100 000 pacientes em uso de anti-TNF.(Apêndice A)

A terapia anti-TNF prejudica o esforço inicial do organismo na ativação de macrófagos e formação de granuloma, diminuindo a proteção contra determinadas infecções.(101) Estudos já demonstraram desenvolvimento de leishmaniose em camundongos infectados após a neutralização do TNF- α .(102) Observou-se também um aumento da expressão desta citocina em lesões cutâneas e mucosas de leishmaniose humana, além de níveis séricos altamente elevados nos pacientes com doença ativa, sendo sugerida uma maior susceptibilidade à reativação da doença nos pacientes em uso de terapias anti-TNF.(103)

Recentemente, o papel das células Th17 na resposta imune contra a leishmaniose tem sido alvo de vários estudos.(65) Como descrito anteriormente, essas células se diferenciam a partir dos linfócitos TCD4, levando a liberação de citocinas como a IL-21, IL-17 e IL-22.(65) Entretanto, a ação específica das drogas anti-IL-17 na patogênese da infecção ainda permanece inconclusiva.(65)

Em nosso estudo, nenhum paciente apresentou evidências de leishmaniose ativa. Sabe-se que o uso de drogas imunossupressoras pode mascarar as manifestações clínicas das doenças infecciosas, sendo importante a avaliação prospectiva destes pacientes, em especial dos portadores assintomáticos, a fim de prever o real risco de desenvolvimento da doença.(104)

Na análise univariada, os resultados positivos da RPCR mostraram uma maior positividade no grupo controle do que nos pacientes que usaram metotrexato (grupo de imunossupressores convencionais). Uma teoria para este resultado antagônico seria que a atividade de Th1, esperada para indivíduos imunocompetentes que vivem em áreas endêmicas, levaria a um aumento na destruição do parasita, resultando em uma maior quantidade de DNA de *Leishmania* circulante, não necessariamente significando um risco maior de desenvolvimento da doença. Nesse sentido, é importante lembrar que o achado de kDNA de *Leishmania* circulante não indica necessariamente doença ativa presente ou futura. Estudos prévios indicam que fragmentos de kDNA livres de células podem ser encontrados tanto no sangue de pacientes com leishmaniose ativa quanto naqueles que só tiveram contato com o parasita.(68, 105, 106)

Outro resultado encontrado foi a identificação nas PCR e RPCR positivas de espécies mais relacionadas à leishmaniose tegumentar (*L. braziliensis* e *L. amazonensis*). Embora divergente da maior parte dos relatos da literatura, que mostram uma predominância de leishmaniose visceral, este é um resultado esperado em nossa população, visto que a forma tegumentar é mais comum.(86, 107) Cabe ressaltar, no entanto, que os exames com métodos moleculares para identificação de *Leishmania* em amostras com baixo número de cópias de parasitas devem sempre ser interpretados com cautela.

Após a análise multivariada, a única variável que influenciou significativamente a positividade de pelo menos um dos testes de triagem foi a presença de história de suspeita leishmaniose canina. Esse é um fator de risco já bem estabelecido,(108, 109) compatível com estudos epidemiológicos que mostram que o aumento da leishmaniose visceral canina precede o aumento de casos de leishmaniose visceral humana.(87, 108) Além disso, ele chama a atenção para o fato de que, embora o estado imunológico seja crítico para o desenvolvimento da infecção, os fatores socioambientais são provavelmente muito mais importantes para a transmissão da doença. Condições ecológicas inadequadas, além da falta de saneamento básico, e presença de animais peridomiciliares, favorecem a manutenção dos vetores e, conseqüentemente, o surgimento da doença.(67, 110)

Embora o teste de McNemar não tenha mostrado nenhuma diferença entre as três técnicas de rastreamento testadas, notamos que a concordância positiva não foi perfeita mesmo para alvos semelhantes em PCR convencional e RPCR (Tabela 2). Essa limitação pode resultar de uma variação intrínseca na acurácia dos exames diagnósticos. Embora a RPCR seja mais sensível que a PCR convencional, a presente reação foi baseada em uma curva de quantificação

previamente definida, o que pode ter elevado seu limite de detecção.(80, 111) Além disso, a interpretação da análise da PCR convencional na eleforese pode resultar em falsas faixas positivas, especialmente quando resulta da amplificação de pares de bases pequenos. Entretanto, acreditamos que a identificação de subgêneros e espécies compatíveis com espécies regionais endêmicas reforçam a especificidade dos nossos achados.

Dentre os testes imunológicos, a maior parte dos métodos sorológicos descritos para leishmaniose apresentam sensibilidade e especificidade variável para a doença ativa,(41, 67) e estudos já mostraram que, em regiões endêmicas, indivíduos assintomáticos também podem apresentar resultados positivos. Uma limitação do estudo refere-se ao fato da imunofluorescência indireta ter sido realizada com anticorpos contra *Leishmania (L.) donovani*, enquanto a maior parte das PCR mostraram identificação de espécies do subgênero *Viannia*. Essa pode ser uma segunda explicação para a total discordância entre os resultados da sorologia e dos exames de biologia molecular utilizados.

6.4 Limitações

Duas principais limitações devem ser destacadas no estudo. A primeira seria a ausência de um exame considerado padrão ouro para o diagnóstico da leishmaniose. Isso nos impede de ter um comparativo de acurácia adequada para avaliar a real eficácia dos exames de rastreamento utilizados no diagnóstico da doença. Embora a especificidade seja reforçada pelo achado de espécies endêmicas da região, talvez a identificação dos casos positivos tenha sido subestimada.

A segunda limitação reside no fato deste ser um estudo transversal. Isso faz com que os pacientes sejam avaliados apenas no presente momento. O seguimento prospectivo é essencial para a avaliação do risco de reativação de leishmaniose, principalmente nos casos em que houve positividade dos exames.

Apesar disso, a positividade nos exames de rastreamento da leishmaniose não se mostrou significativa em pacientes imunossuprimidos, uma vez que a maior parte dos nossos pacientes viveu nessa área endêmica por um longo período (Tabela 1).

Dessa forma, nossos resultados sugerem que não há aumento na prevalência de infecção por *Leishmania* em pacientes com psoríase e / ou artrite psoriásica que estejam em tratamento

com drogas imunossupressoras, inclusive imunobiológicos. Apesar da recente periurbanização da leishmaniose no centro-oeste do Brasil, o contato com áreas onde o vetor está presente ainda é o principal fator de risco para a transmissão da doença, assim pacientes imunossuprimidos devem tomar medidas para evitar o contato com vetores, porque a doença ativa é consideravelmente mais grave em pacientes infectados.

7 CONCLUSÕES



“Auto-retrato depois da gripe espanhola”

Edvard Munch, 1919.

Óleo sobre tela. 150 x 131 cm

Galeria Nacional, Oslo

7 CONCLUSÕES

- Não houve diferença estatisticamente significativa na positividade dos exames de rastreamento de leishmaniose entre os grupos de tratamento (psoríase e/ou artrite psoriásica em tratamento com imunobiológicos; psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de drogas imunossupressoras não imunobiológicas; psoríase e/ou artrite psoriásica que não estejam em uso de drogas imunossupressoras sistêmica; e população imunocompetente).
- Mesmo com alvos semelhantes, a PCR e RPCR para kDNA padronizadas no laboratório de Dermatocologia da FM/UnB não mostraram concordância positiva perfeita. Isso pode resultar de uma variação nas propriedades de precisão dos métodos diagnósticos, entretanto a identificação de subgêneros e espécies compatíveis com espécies regionais endêmicas reforçam a especificidade dos resultados.
- A única variável que influenciou significativamente a positividade de pelo menos um dos exames de rastreamento foi a história de suspeita leishmaniose canina, o que mostra que os fatores socioambientais são provavelmente muito mais importantes para a transmissão da doença, que a condição imunológica. Dessa forma, a principal recomendação para pacientes imunossuprimidos que residam ou viajam para áreas endêmicas são medidas para evitar o contato com vetores, porque a doença ativa é consideravelmente mais grave em pacientes infectados.
- Não houve concordância entre os exames de PCR e a IFI. Os exames de biologia molecular apresentam acurácia mais elevada que os testes sorológicos, entretanto o uso de anticorpos contra subgênero diferente dos identificados nos exames de PCR pode ter potencializado essa discordância.

- Os pacientes dos grupos de psoríase e artrite psoriásica mostraram maiores associações com comorbidades e obesidade. A forma clínica mais prevalente foi a psoríase vulgar, e a história de acometimento de áreas especiais foi mais relatada nos grupos de pacientes em uso de imunomoduladores.

8 PERSPECTIVAS



“Built from scratch”, Michelle Castles, 2016

“Life’s an icht” Gallery, Londres

8 PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos neste estudo suscitaram questões que poderão ser objeto de pesquisa em projetos futuros:

1. Avaliação do perfil de citocinas e quimiocinas dos diferentes grupos, comparando os resultados dos pacientes que mostraram exames positivos, a fim de se determinar possíveis indicadores de susceptibilidade.
2. Acompanhamento dos pacientes, através de um estudo de coorte, para avaliar a validade dos exames positivos e identificar o risco de reativação de leishmaniose nesses pacientes a longo prazo.
3. Avaliação do risco de outras doenças endêmicas importantes em nosso país, como a hanseníase e a doença de Chagas, que também poderiam sofrer influência das drogas imunossupressoras, através de estudo para a detecção de DNA destes patógenos.

9 PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PRÊMIAÇÕES RELACIONADA AO MATERIAL DA TESE



“Retrato de Leonor de Toledo e seu filho”

Bronzino, 1545

Óleo em tela, 115x96cm

Galeria Uffizi, Florença

Conhecida como a bela face por trás de uma das mais poderosas famílias do renascimento italiano, os Médici, Leonor de Toledo faleceu em 1562, por um quadro febril agudo sugestivo de malária associado a tuberculose pulmonar. Entretanto estudos de PCR realizados nos restos mortais da nobre em 2012 revelaram a associação de *Mycobacterium tuberculosis* a *Leishmania infantum*, revelando o diagnóstico de leishmaniose visceral.

9 PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PREMIAÇÕES RELACIONADAS AO MATERIAL DA TESE

9.1 Apresentações em congressos

- Identificação do DNA de *Leishmania* de pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de imunobiológicos. ATUAR – Atualização em Reumatologia, Brasília, 2018.

9.2 Artigos publicados

- Kurizky PS, Mota LMH, Gomes CM. The paradoxo of tegumentary leishmaniasis diagnosis: how the need for accurate and modern techniques is being addressed in low income areas. *EBioMedicine*. 2018. Doi: 10.1016/j.ebiom.2018.11.011. Epub 2018 Nov 16 (Apêndice D – Qualis Capes A1 – FI 6,3)
- Kurizky PS et al. Cross-sectional screening study for *Leishmania* DNA and antibodies in biologic-treated psoriasis patients living in an area endemic for leishmaniasis. *Br J Dermatol*. 2019. Doi: 10.1111/bjd.18262. [Epub ahead to print] (Apêndice E – Qualis Capes A1 – FI 6,13)

9.3 Artigos submetidos à publicação

- “The prevalence of leishmaniasis in patients with medication-induced immunosuppression for the treatment of dermatological, rheumatological and gastroenterological diseases: a comprehensive systematic review of the literature”. Submetido à *British Journal of Dermatology*, em 24 de junho de 2019. (Apêndice A)

9.4 Prêmios

- Identificação do DNA de *Leishmania* de pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica em uso de imunobiológicos. ATUAR, 2018 - Prêmio 1º Lugar em Trabalho Científico
- Identificação do DNA de *Leishmania*, *M. tuberculosis* e *M. leprae* em pacientes com psoríase em terapia com anti-interleucinas e correlação com o perfil

imunológico. Prêmio La Roche Posay de Melhor Projeto de Pesquisa em Doenças Regionais da América Latina 2018.

10 REFERÊNCIAS



Cartaz da Inspetoria de Profilaxia da Tuberculose,
Rio de Janeiro, 1922

10 REFERÊNCIAS

1. Langham S, Langham J, Goertz HP, Ratcliffe M. Large-scale, prospective, observational studies in patients with psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic and critical view. *BMC Medical Research Methodology*. 2011;11:32. doi: 10.1186/1471-2288-11-32.
2. Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26 (Suppl 2):3-11.
3. Menter A, Strober BE, Kaplan DH, Kivelevitch D, Prater EF, Stoff B, et al. Joint AAD-NPF guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with biologics. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:1029-72.
4. Carneiro JN, Paula AP, Martins GA. Psoriatic arthritis in patients with psoriasis: evaluation of clinical and epidemiological features in 133 patients followed at the University Hospital of Brasília. *An Bras Dermatol*. 2012;87:539-44.
5. Romiti R, Arnone M, Menter A, Miot HA. Prevalence of psoriasis in Brazil - a geographic survey. *Int J Dermatol*. 2017;56:e167-e168e
6. Ruiz DG, Azevedo MN, Santos OL. Psoriatic arthritis: a clinical entity distinct from psoriasis? *Rev Bras Reumatol*. 2012;52:630-8.
7. Fernandez-Ruiz M, Manuel O, Akan H, Carratala J, Aguado JM, Delaloye J. ESCMID study group of Infections in compromised Hosts (ESGIH) Consensus Documento on the safety of targeted and biological therapies: an infectious diseases perspective (Introduction). *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(Suppl 2):s2-s9
8. Arnone M, Takahashi MDF, Carvalho AVE, Bernardo WM, Bressan AL, Ramos AMC, et al. Diagnostic and therapeutic guidelines for plaque psoriasis - Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol*. 2019;94(2 Suppl 1):76-107.
9. Myers WA, Gottlieb AB, Mease P. Psoriasis and psoriatic arthritis: clinical features and disease mechanisms. *Clin Dermatol*. 2006;24(5):438-47.
10. Porro AM, Chaul A, Gripp A, Arruda ACBB, Hirayama ALS, Carvalho AVE et al. Consenso Brasileiro de Psoríase 2012 - Guias de avaliação e tratamento. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Editor: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2a ed. Rio de Janeiro; 2012, 172 p.

11. Ranza R, Carneiro S, Qureshi A, Martins G, Rodrigues J, Romiti R, et al. Prevalence of psoriatic arthritis in a large cohort of Brazilian patients with psoriasis. *J Rheumatol.* 2015;42:829-34.
12. Perrin C. Nail Anatomy, Nail Psoriasis, and Nail Extensor Enthesitis Theory: What Is the Link? *Am J Dermatopathol.* 2019;41:399-409.
13. Foulkes AC, Grindlay DJ, Griffiths CE, Warren RB. What's new in psoriasis? An analysis of guidelines and systematic reviews published in 2009-2010. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36:585-9.
14. Faria JR, Aarão AR, Jimenez LM, Silva OH, Avelleira JC. Inter-rater concordance study of the PASI (Psoriasis Area and Severity Index). *An Bras Dermatol.* 2010;85:625-9.
15. Chandran V, Schentag CT, Gladman DD. Sensitivity of the classification of psoriatic arthritis criteria in early psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;57:1560-3.
16. Scotti L, Franchi M, Marchesoni A, Corrao G. Prevalence and incidence of psoriatic arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2018;48:28-34.
17. Solmaz D, Eder L, Aydin SZ. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of psoriatic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32:295-311.
18. Goldenstein-Schainberg C, Favarato MH, Ranza R. Current and relevant concepts in psoriatic arthritis. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52:98-106.
19. Egeberg A, Skov L, Zachariae C, Gislason GH, Thyssen JP, Mallbris L. Duration of Psoriatic Skin Disease as Risk Factor for Subsequent Onset of Psoriatic Arthritis. *Acta Derm Venereol.* 2018;98:546-50.
20. Calabresi E, Monti S, Governato G, Carli L. One year in review 2018: psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2019;37:167-78.
21. Kleinert S, Feuchtenberger M, Kneitz C, Tony HP. Psoriatic arthritis: clinical spectrum and diagnostic procedures. *Clin Dermatol.* 2007;25:519-23.
22. Idolazzi L, Zabotti A, Fassio A, Errichetti E, Benini C, Vantaggiato E, et al. The ultrasonographic study of the nail reveals differences in patients affected by inflammatory and degenerative conditions. *Clin Rheumatol.* 2019;38:913-20.
23. Gottlieb A, Merola JF. Psoriatic arthritis for dermatologists. *J Dermatolog Treat.* 2019:1-18.
24. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2665-73.

25. Raychaudhuri SP, Wilken R, Sukhov AC, Raychaudhuri SK, Maverakis E. Management of psoriatic arthritis: Early diagnosis, monitoring of disease severity and cutting edge therapies. *J Autoimmun.* 2017;76:21-37.
26. Cretu D, Gao L, Liang K, Soosaipillai A, Diamandis EP, Chandran V. Differentiating Psoriatic Arthritis From Psoriasis Without Psoriatic Arthritis Using Novel Serum Biomarkers. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2018;70:454-61.
27. Furlan A, Stramare R. The thickening of flexor tendons pulleys: a useful ultrasonographical sign in the diagnosis of psoriatic arthritis. *J Ultrasound.* 2018;21:309-14.
28. Mumtaz A, Gallagher P, Kirby B, Waxman R, Coates LC, Veale J D, et al. Development of a preliminary composite disease activity index in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:272-7.
29. FitzGerald O, Helliwell P, Mease P, Mumtaz A, Coates L, Pedersen R, et al. Application of composite disease activity scores in psoriatic arthritis to the PRESTA data set. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:358-62.
30. Golbari NM, Porter ML, Kimball AB. Current guidelines for psoriasis treatment: a work in progress. *Cutis.* 2018;101(3S):10-2.
31. Mrowietz U, Kragballe K, Reich K, Spuls P, Griffiths CE, Nast A, et al. Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. *Arch Dermatol Res.* 2011;303:1-10.
32. Armstrong AW, Siegel MP, Bagel J, Boh EE, Buell M, Cooper KD, et al. From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: Treatment targets for plaque psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76:290-8.
33. Al-Khalili A, Dutz JP. Immunosuppression/Infections across Indications. *Curr Probl Dermatol.* 2018;53:28-36.
34. Reina D CD, Guell E, Martinez Montauti J, Pineda A, Corominas H. Visceral leishmaniasis in a rheumatoid arthritis patient receiving methotrexate. *Reumatol Clin.* 2017;13:354-356.
35. Souza RM, Andrade JH, Duarte MIS, Braz LMA, Schubach AO, Silva FC, Amato VS. Reactivation of cutaneous and mucocutaneous tegumentary leishmaniasis in rheumatoid arthritis patients: an emerging problem? *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2017;59:e6.
36. Snast I, Bercovici E, Solomon-Cohen E, Avni T, Shitenberg D, Hodak E, et al. Active Tuberculosis in Patients with Psoriasis Receiving Biologic Therapy: A Systematic Review. *Am J Clin Dermatol.* 2019. doi: 10.1007/s40257-019-00432-y. [Epub ahead of print]

37. Rakotonarivo L L-DD, Janier M. Plurifocal cutaneous leishmaniasis during treatment with ustekinumab. *JAAD case rep.* 2018;4:298-300.
38. Dávila-Seijo P, Dauden E, Descalzo MA, Carretero G, Carrascosa JM, Vanaclocha F, et al. Infections in Moderate to Severe Psoriasis Patients Treated with Biological Drugs Compared to Classic Systemic Drugs: Findings from the BIOBADADERM Registry. *J Invest Dermatol.* 2017;137:313-21.
39. Baradat C, Degboé Y, Constantin A, Cantagrel A, Ruysen-Witrand A. No impact of concomitant methotrexate use on serious adverse event and serious infection risk in patients with rheumatoid arthritis treated with bDMARDs: a systematic literature review and meta-analysis. *RMD Open.* 2017;3:e000352.
40. Rademaker M, Agnew K, Anagnostou N, Andrews M, Armour K, Baker C, et al. Psoriasis and infection. A clinical practice narrative. *Australas J Dermatol.* 2019;60:91-8.
41. Gomes CM, Paula N, Morais O, Soares K, Roselino A, RN S. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. *An Bras Dermatol.* 2014;89:701-9.
42. Name QR, Borges KT, Nogueira LSC, Sampaio JHD, Tauil PL, Sampaio RNR. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil. *An Bras Dermatol.* 2005;80:249-54.
43. Carranza-Tamayo CO, AT, Neria ATB, Cupolillo E, Rabello A, Romero GAS. Prevalence of Leishmania infection in adult HIV/AIDS patients treated in a tertiary-level care center in Brasilia, Federal District, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2009;103:743-8.
44. Burza S, Croft S, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet.* 2018.
45. Gomes K, Benevides AN, Vieira FJ, Burlamaqui MP, Vieira MdeA, Fontenelle LM. Leishmaniose tegumentar em paciente com espondilite anquilosante utilizando adalimumabe. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52:447-52.
46. van Griensven J, Carrillo E, Lopez-Velez R, Lynen L, Moreno J. Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:286-99.
47. Kevric I, Cappel MA, Keeling JH. New World and Old World Leishmania Infections - a practical review. *Dermatol Clin.* 2015;33:579-93.
48. Pagliano P, Esposito S. Visceral leishmaniasis in immunocompromised host: an update and literature review. *J Chemotherapy.* 2017;29:261-266.

49. Lainson R, Shaw J. Evolution, classification and geographical distribution. In: W Peters & Killick-Kendrick (eds). *The Leishmaniasis in Biology and medicine*. V.1. Londres: Academic Press; 1981. p. 1-120.
50. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. *Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica*. – 2. ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2007. 182 p.
51. van Griensven J, Diro E. Visceral Leishmaniasis: recent advances in diagnostic and treatment regimens. *Inf Dis Clin N Am*. 2019;33:79-99.
52. Abdoli A. Correspondence: Leishmaniasis. *Lancet*. 2019;393:872.
53. Gonçalves-de-Albuquerque SDC, Pessoa-e-Silva R, Trajano-Silva LAM, de Goes TC, de Moraes RCS, da C Oliveira CN, de Lorena VMB, de Paiva-Cavalcanti M. The equivocal role of Th17 cells and neutrophils on immunopathogenesis of Leishmaniasis. *Front Immunol*. 2017;8:1437.
54. Laskay T, van Zandbergen G, Solbach W. Neutrophil granulocytes -Trojan horses for *Leishmania major* and other intracellular microbes? *Trends Microbiol*. 2003;11:210-4.
55. Laskay T, van Zandbergen G, Solbach W. Neutrophil granulocytes as host cells and transport vehicles for intracellular pathogens: apoptosis as infection-promoting factor. *Immunobiology*. 2008;213:183-91.
56. Maspi N, Abdoli A, Ghaffarifar F. Pro- and anti-inflammatory cytokines in cutaneous leishmaniasis: a review. *Pathog Glob Health*. 2016;110:247-60.
57. Silveira FT, Lainson R, Gomes CM, Laurenti MD, Corbett CE. Reviewing the role of the dendritic Langerhans cells in the immunopathogenesis of American cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102:1075-80.
58. Follador I, Araújo C, Bacellar O, Araújo CB, Carvalho LP, Almeida RP, et al. Epidemiologic and immunologic findings for the subclinical form of *Leishmania braziliensis* infection. *Clin Infect Dis*. 2002;34:E54-8.
59. Jones DE, Buxbaum LU, Scott P. IL-4-independent inhibition of IL-12 responsiveness during *Leishmania amazonensis* infection. *J Immunol*. 2000;165:364-72.
60. de Souza Carmo EV, Katz S, Barbiéri CL. Neutrophils reduce the parasite burden in *Leishmania (Leishmania) amazonensis*-infected macrophages. *PLoS One*. 2010;5:e13815.

61. Charmoy M, Auderset F, Allenbach C, Tacchini-Cottier F. The prominent role of neutrophils during the initial phase of infection by *Leishmania* parasites. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:719361.
62. Pitta MG, Romano A, Cabantous S, Henri S, Hammad A, Kouriba B, et al. IL-17 and IL-22 are associated with protection against human kala azar caused by *Leishmania donovani*. *J Clin Invest.* 2009;119:2379-87.
63. Novoa R, Bacellar O, Nascimento M, Cardoso TM, Ramasawmy R, Oliveira WN, et al. IL-17 and Regulatory Cytokines (IL-10 and IL-27) in *L. braziliensis* Infection. *Parasite Immunol.* 2011;33:132-6.
64. Lopez Kostka S, Dinges S, Griewank K, Iwakura Y, Udey MC, von Stebut E. IL-17 promotes progression of cutaneous leishmaniasis in susceptible mice. *J Immunol.* 2009;182:3039-46.
65. Anversal L, Tibúrcio M, Richini-Pereira V, Ramirez L. Human leishmaniasis in Brazil: A general review. *Rev Assoc Med Bras* 2018;64:281-9.
66. Elmahallawy E, Martínez A, Rodriguez-Granger J, Mallecot Y, Agil A, Mari J, et al. Diagnosis of leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries* 2014;8:961-72.
67. Zijlstra E. Visceral leishmaniasis: a forgotten epidemic. *Arch Dis Child.* 2016;101:561-7.
68. Sundar S, Singh OP. Molecular Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Molecular Diagn Ther.* 2018. doi:10.1007/s40291-018-0343-y
69. Fernandez-Flores A. A new scenario in the immunohistochemical diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *J Cutan Pathol.* 2017;44:1051-2.
70. Venazzi EA, Roberto AC, Barbosa-Tessmann IP, Zanzarini PD, Lonardon MV, Silveira TG. Detection of *Leishmania* (*Viannia*) DNA in blood from patients with American cutaneous leishmaniasis. *Exp Parasitol.* 2007;115:399-402.
71. Vergel C, Palacios R, Cadena H, Posso CJ, Valderrama L, Perez M, et al. Evidence for leishmania (*viannia*) parasites in the skin and blood of patients before and after treatment. *J Infect Dis.* 2006;194:503-11.
72. Spanakos G, Piperaki ET, Menounos PG, Tegos N, Flemetakis A, Vakalis NC. Detection and species identification of Old World *Leishmania* in clinical samples using a PCR-based method. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102:46-53.

73. Fagundes A, Marzochi MC, Fernandes O, Perez MA, Schubach AO, Schubach TM, et al. First encounter of subclinical human *Leishmania* (*Viannia*) infection in State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:1003-5.
74. Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. *J Clin Microbiol*. 2004;42:5249-55.
75. Pinheiro ABA, Kurizky PS, Ferreira MF, Mota MAS et al. Accuracy of Montenegro skin test for the diagnosis of American Tegumentary Leishmaniasis in PCR negative patients. *JEADV* no prelo 2019.
76. Pita-Pereira D, Lins R, Oliveira M, Lima R, Pereira B, Moreira O, et al. SYBR Green-based real-time PCR targeting kinetoplast DNA can be used to discriminate between the main etiologic agents of Brazilian cutaneous and visceral leishmaniases. *Parasit Vectors BioMed Central*. 2012;5:15.
77. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006;54:2665-73.
78. Petruccelli, JL. A cor denominada: um estudo do suplemento da PME de julho/98. In: IBGE, Departamento de população e indicadores sociais, 2000. 55 p.
79. Gomes CM, Paula N, Cesetti M, Roselino A, Sampaio R et al. Mucocutaneous leishmaniasis: accuracy and molecular validation of noninvasive procedures in a *L. (V.) braziliensis*-endemic area. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;79:413-8.
80. Gomes CM, Cesetti M, de Paula N, Vernal S, Gupta G, Sampaio RN et al. Field validation of SYBR® Green- and TaqMan®-based real-time PCR using biopsy and swab samples to diagnose American tegumentary leishmaniasis in a *Leishmania (V.) braziliensis*-endemic area. *J Clin Microbiol*. 2017;55:526-34.
81. Bujang M, Adnan T. Requirements for minimum sample size for sensitivity and specificity analysis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10:YE01-YE6.
82. RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com>
83. Barros A, Hirakata V. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol*. 2003;3:21.
84. Victora C, Huttly S, Fuchs S, Olinto M. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. *Int J Epidemiol*. 1997;26:224-7.

85. Allison P. Logistic regression Using SAS - Theory and Application. North Caroline: SAS Institute; 1999.
86. Ministério da Saúde. <http://www.brasil.gov.br/noticias/saude/2017/08/casos-de-leishmaniose-caem-no-pais-mas-doenca-ainda-requer-atencao> 2017 [acesso em 01/07/2019]
87. Silva GJ, Silva E, Costa GRT, Santos IB. Surveillance of Visceral Leishmaniasis in the Federal District: organizational aspects, epidemiological situation and intersectoral measures. *Com Ciências Saúde*. 2017;28:149-57.
88. Carranza-Tamayo CO, Carvalho MoS, Bredt A, Bofil MI, Rodrigues RM, Silva AD, et al. Autochthonous visceral leishmaniasis in Brasília, Federal District, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43:396-9.
89. Sampaio RN, de Paula CD. [American cutaneous leishmaniasis in the Federal District]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;32:523-8.
90. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Informes epidemiológicos - Leishmanioses. 2018. www.saude.df.gov.br/leishmaniose/02/05/2018 [acesso 25/06/2019]
91. Jensen P, Skov L. Psoriasis and Obesity. *Dermatology*. 2016;232:633-9.
92. Budu-Aggrey A, Brumpton B, Tyrrell J, Watkins S, Modalsli EH, Celis-Morales C, et al. Evidence of a causal relationship between body mass index and psoriasis: A mendelian randomization study. *PLoS Med*. 2019;16:e1002739.
93. Frasca D, McElhaney J. Influence of Obesity on Pneumococcus Infection Risk in the Elderly. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:71.
94. Dhana A, Yen H, Cho E. All-cause and cause-specific mortality in psoriasis: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:1332-43.
95. Yiu ZZN, Sorbe C, Lunt M, Rustenbach SJ, Köhl L, Augustin M, et al. Development and validation of a multivariable risk prediction model for serious infection in patients with psoriasis receiving systemic therapy. *Br J Dermatol*. 2019;180:894-901.
96. Feldman SR, Hur P, Zhao Y, Tian H, Wei Z, Wang X, et al. Incidence rates of comorbidities among patients with psoriasis in the United States. *Dermatol Online J*. 2018;24. pii:13030/qt2m18n6vj.
97. Hollox EJ, Huffmeier U, Zeeuwen PL, Palla R, Lascorz J, Rodijk-Olthuis D, et al. Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number. *Nat Genet*. 2008;40:23-5.

98. Takeshita J, Shin DB, Ogdie A, Gelfand JM. Risk of Serious Infection, Opportunistic Infection, and Herpes Zoster among Patients with Psoriasis in the United Kingdom. *J Invest Dermatol*. 2018;138:1726-35.
99. Wakkee M, de Vries E, van den Haak P, Nijsten T. Increased risk of infectious disease requiring hospitalization among patients with psoriasis: a population-based cohort. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65:1135-44.
100. Yende S, Tuomanen EI, Wunderink R, Kanaya A, Newman AB, Harris T, et al. Preinfection systemic inflammatory markers and risk of hospitalization due to pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:1440-6.
101. Chirch LM, Cataline PR, Dieckhaus KD, Grant-Kels JM. Proactive infectious disease approach to dermatologic patients who are taking tumor necrosis factor–alfa antagonists *J Am Acad Dermatol*. 2014;71:1.e-e8.
102. Liew F, Parkinson C, Millott S, Severn A, Carrier M. Tumour necrosis factor (TNF alpha) in leishmaniasis. I. TNF alpha mediates host protection against cutaneous leishmaniasis. *Immunology*. 1990;69:570-3.
103. Arens K, Filippis C, Kleinfelder H, Goetzee A, Reichmann G, Crauwels P, et al. Anti-Tumor Necrosis Factor α Therapeutics Differentially Affect Leishmania Infection of Human Macrophages. *Front Immunol* 2018;9:1772.
104. Ena J, Pasquau F, Martinez-Peinado C, Arjona F. Screening for subclinical Leishmania infection in HIV-infected patients living in eastern Spain. *Pathog Glob Health*. 2014;108:356-61.
105. Neitzke-Abreu H, Venazzi M, Bernal M, Reinhold-Castro K, Vagetti F, Mota C, et al. Detection of DNA from Leishmania (Viannia): accuracy of polymerase chain reaction for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *PLoS One*. 2013;8:e62473.
106. de Ruiter C, van der Veer C, Leeflang M, Deborggraeve S, Lucas C, et al. Molecular tools for diagnosis of visceral leishmaniasis: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *J Clin Microbiol*. 2014;52:3147-55.
107. Pan American Health Organization. Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas Washington: Pan America Health Organization; 2018 [Available from: www.paho.org/leishmaniasis].

108. Rocha MAN, Matos-Rocha TJ, Ribeiro CMB, Abreu SRO. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in State of Alagoas, Northeast, Brazil. *Braz J Biol.* 2018;78:609-14.
109. Sevá AD, Mao L, Galvis-Ovallos F, Tucker Lima JM, Valle D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11:e0005353.
110. Araujo AR, Portela NC, Feitosa AP, Silva OA, Ximenes RA, Alves LC, et al. Risk factors associated with American Cutaneous Leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2016;58:86.
111. Sevilha-Santos L, dos Santos Jr ACM, Medeiros-Silva V, et al. Accuracy of qPCR for quantifying *Leishmania* kDNA in different skin layers of patients with American tegumentary leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25:242-247

APÉNDICES

Apêndice A – Artigo de Revisão Sistemática, submetido ao *British Journal of Dermatology*: “The prevalence of leishmaniasis in patients with medication-induced immunosuppression for the treatment of dermatological, rheumatological and gastroenterological diseases: a comprehensive systematic review of the literature”



The prevalence of leishmaniasis in patients with medication-induced immunosuppression for the treatment of dermatological, rheumatological and gastroenterological diseases: a comprehensive systematic review of the literature.

Journal:	<i>British Journal of Dermatology</i>
Manuscript ID	BJD-2019-1525.R1
Manuscript Type:	Research Letter
Date Submitted by the Author:	09-Jul-2019
Complete List of Authors:	Kurizky, Patricia; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas Marianelli, Fernanda; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology Cesetti, Mariana; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas Damiani, Giovanni; Case Western Reserve University, Dermatology; Young Dermatologists Italian Network ; University of Milan, , Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences Sampaio, Raimunda Nonata; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências da Saúde Gonçalves, Lais; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology Sousa, Carlos Augusto; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas Martins, Sofia ; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências da Saúde Vernal, Sebastian; Universidade de Sao Paulo Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto, Clinical Medicine da Mota, Licia Maria; Hospital Universitário de Brasília, Rheumatology; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas Gomes, Ciro; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Medicina Tropical

Apêndice B – Termo de consentimento livre e esclarecido



Hospital Universitário de Brasília

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar do projeto de pesquisa “Avaliação comparativa do perfil de quimiocinas e citocinas séricas de pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica tratados com metotrexato e drogas biológicas”, sob a responsabilidade do pesquisador Patricia Shu Kurizky. Trata-se de um estudo que vai avaliar o sistema de defesa (sistema imunológico) de pessoas (pacientes) com psoríase e/ou artrite psoriásica, em tratamento com remédios orais ou injetáveis ou cremes.

O objetivo desta pesquisa é analisar o sistema de defesa de pacientes brasileiros com psoríase e/ou artrite psoriásica, verificar se o tratamento com os diferentes tipos de remédios exerce um impacto diferenciado nos componentes do sistema de defesa desses pacientes e se isso influencia na resposta que cada paciente apresenta aos remédios.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio de uma entrevista, exame clínico e um exame de sangue, que levarão cerca de 30 minutos (10 minutos para entrevista, 10 minutos para o exame clínico e 10 minutos para a coleta de sangue), no dia da sua consulta de rotina no ambulatório de Psoríase ou de Artrite Psoriásica, no Hospital Universitário de Brasília – SGAN 605 Av. L2 Norte, s/n – Prédio dos Ambulatórios – corredor vermelho – Dermatologia, nos casos de psoríase ou corredor laranja – Reumatologia, nos casos de artrite psoriásica. Será realizada uma única entrevista, durante a qual, o paciente responderá algumas perguntas sobre sua doença e o paciente será examinado para avaliar a gravidade e a extensão da psoríase. Após a entrevista será realizada uma única coleta de sangue. O seu sangue será analisado para avaliar alterações do seu sistema de defesa relacionadas à psoríase e ao seu tratamento, além de ser feita pesquisa para identificar presença de microorganismos causadores de hanseníase, tuberculose e leishmaniose.

O seu tratamento para a doença não será modificado e não serão testados novos remédios para a doença. Todos os procedimentos serão realizados junto com a sua consulta de rotina de acompanhamento no ambulatório de Psoríase do HUB

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são relacionados apenas à coleta de sangue, podendo ocorrer dor, formação de área roxa na região onde foi coletado sangue (hematoma), ou inflamação no local onde o sangue foi coletado (flebite). Tentaremos diminuir os possíveis desconfortos que a coleta de sangue pode causar com uma limpeza adequada da área antes da coleta e com a compressão do local após. Em relação aos outros procedimentos do estudo (entrevista e exame clínico), sua participação na pesquisa fará com que sua consulta seja um pouco mais demorada para um exame detalhado e preenchimento das perguntas, porém tentaremos agilizar esses procedimentos o quanto for possível.

Não existem muitas informações a respeito da comparação da ação dos diferentes remédios usados na psoríase no sistema de defesa em pacientes com psoríase / artrite psoriásica. Assim, se você aceitar participar, estará contribuindo este estudo para que se possa conhecer um pouco mais sobre esses efeitos. Isso pode ser útil para que os médicos possam ter mais informações na escolha do melhor tratamento de cada paciente. **Além disso, caso durante a pesquisa, seja identificada a presença de microorganismos causadores de leishmaniose, hanseníase ou tuberculose em seu sangue, o (a) Senhor(a) será avisado e receberá tratamento e acompanhamento adequado.**

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Todas as despesas extras que você tiver relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na **Universidade de Brasília** podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: **Patricia Shu Kurizky**, no serviço de dermatologia do Hospital Universitário de Brasília no telefone **(61) 20285415 ou (61) 81148432**, no horário **de 2^a-6^a feira de 8-17h**.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina (CEP/FM) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1918 ou do e-mail cepfm@unb.br, horário de atendimento de 08:00hs às 12:00hs e de 13:00hs às 16:00hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FM se localiza na Faculdade de Medicina, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor(a).

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Nome e assinatura

Brasília, ____ de _____ de _____.

Apêndice C – Ficha clínica**Ficha Clínica**

Pront. _____ Data do exame clínico ___/___/___

Nome: _____

Sexo: 1.() Masc 2.()Fem

Data de nascimento: ___/___/___ idade atual : _____

Tel: _____

End: _____

Natural de: _____

Procedente de: _____

Local de residência / há quanto tempo _____

Cor da pele: 1.() branca 2.() negro 3.() pardo 4.() amarelo 5.() outra

Data diagnóstico de psoríase:

Forma clínica:

1. () vulgar (em placas) 2. () gutata 3. () palmoplantar 4. () pustulosa

5. () eritodérmica 6. () ungueal

BSA:

PASI:

DLQI:

Circunferência abdominal:

Peso:

Altura:

Onicopatia: 0.() Não 1.() Sim

NAPSI:

Acometimento couro cabeludo: 0.() Não 1.() Sim

Acometimento genital / sulco interglúteo: 0.() Não 1.() Sim

Tabagismo: 0.() Não 1.() Sim

Etilismo: 0.() Não 1.() Sim

Prurido: 0. () Não 1.() Sim

Melhora com sol: 0.() Não 1.() Sim

Piora com alteração do humor: 0.() Não 1.() Sim

HFAM psoríase: 0.() Não 1.() Sim

HFam de MH () Leishmaniose () TB ()

Em tratamento para psoríase? 0.() não () sim

Qual?

1. () fototerapia

2. () Tópico: _____

3. () sistêmico MTX: () VO () Parenteral – Dose: _____

4. () Sistêmico acitretina

5. () ciclosporina:

6. biológico: () infliximabe () adalimumabe () etanercepte () ustekinumabe

7.outros: _____

Dose:

Tratamentos prévio:

Comorbidades: () DM () HAS () Dislipidemia () Cardiopatia

() HIV/AIDS () Alcoolismo () Tabagismo () Câncer () Doença Mental

() outras: _____

Toma algum medicamento? _____

Sintomas articulares: 0.() não 1. () sim: a) dedo em salsicha () b) artralgia () c) dor tendão de Aquiles ()

Início dos sintomas articulares:

Classificação reumatológica:

1. () só psoríase 2. () Psoríase e artrose 3. () Psoríase e FM 4. () Artrite psoriásica 5. ()
Indefinido

Intercorrências:

História prévia de () MH () Leishmaniose () Tuberculose ()

INVESTIGAÇÃO LEISHMANIOSE

História pregressa de leishmaniose? Tipo _____ Tratamento

História de ferida na pele que demorou a cicatrizar: Quando? _____ Por quanto tempo?

Queixas nasais:

Sangramento (), secreção constante (), perfuração de septo ()

Contato recente com área de matas ou beiras de rios (pesca, lazer, trabalho): Quando?
 _____ Por quanto tempo? _____

Reside com animais domésticos () sim () não. Quais? _____

Quantos? _____ Algum com suspeita de leishmaniose canina? _____

Apêndice D – The paradox of tegumentary leishmaniasis diagnosis: how the need for accurate and modern techniques is being addressed in low income areas

EBioMedicine 38 (2018) 19–20



Contents lists available at ScienceDirect

EBioMedicine

journal homepage: www.ebiomedicine.com
EBioMedicine
 Published by THE LANCET

Commentary

The paradox of tegumentary leishmaniasis diagnosis: How the need for accurate and modern techniques is being addressed in low income areas


 Patrícia Shu Kurizky ^{a,1}, Licia Maria Henrique da Mota ^{b,1}, Ciro Martins Gomes ^{c,*}
^a *Diagnóstico Dermatologia Group, Hospital Universitário de Brasília, SGAN 605, Av. L2 Norte, Brasília, DF 70.840-901, Brazil*
^b *Serviço de Reumatologia, Hospital Universitário de Brasília, Pós-graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília, DF 70.910-900, Brazil*
^c *Diagnóstico Dermatologia Group, Núcleo de Medicina Tropical, Pós-graduação em Ciências Médicas, Laboratório de Dermatopatologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília, DF 70.910-900, Brazil*

Tegumentary leishmaniasis (TL) is a neglected disease that is experiencing an alarming increase in incidence, especially in underdeveloped regions of the world [1]. The causal parasite, *Leishmania*, is transmitted by vectors and can cause cutaneous and mucous lesions [2]. The clinical presentation of the disease differs according to characteristics related to the parasite and the host response.

The diagnosis of TL needs to be specific because the existing treatment has considerable toxicity [3]. However, specific complementary tests that aim to directly identify the parasite, such as cultures or smears, have relatively low sensitivities [2]. Furthermore, the immunological tests that can achieve acceptable sensitivities, such as the Montenegro skin test and serology, tend to be limited by low specificities [2]. Molecular tests that are more accurate require advanced laboratory facilities [4,5]. The implementation of these methods is difficult in the remote areas in which TL is more frequent.

Recent studies, including systematic reviews of the literature, have called attention to the fact that TL is a disease for which no gold standard diagnostic technique exists and that most studies on this topic are performed in extremely controlled environments [6]. It is important to note that new studies aiming to develop diagnostic tools for TL need to determine whether the tests have strong external validity. New diagnostic tools for leishmaniasis should ideally be accurate and easily deliverable to end-users. Other practical characteristics, such as affordability, user-friendliness, reliability and equipment-free, should also be present in ideal conditions.

Vink MMT et al. [7] compared two techniques for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis (CL) at the Leishmaniasis Clinic of the National Malaria and Leishmaniasis Control Programme (NMLCP) in Kabul, Afghanistan. The research, designed as a cross-sectional/cohort accuracy study, evaluated the CL Detect™ Rapid Test for Cutaneous Leishmaniasis (InBios International, Inc., Seattle, USA) (CL Detect) and

the Loopamp™ Leishmania Detection Kit (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan) (Loopamp) against a composite reference standard formed by microscopic evaluation of skin smears and real-time polymerase chain reaction (PCR) from samples collected using a dental broach. After recruitment, 257 cases and 17 controls were included.

The CL Detect is a qualitative immunochromatographic assay for the rapid detection of the peroxidoxin antigen of *Leishmania*. Samples are collected from ulcerative leishmaniasis lesions with a dental broach. The sample is added to a lysis buffer and then tested with a testing strip. The authors reported an in-site sensitivity of 65.4% and a specificity of 100%.

Loopamp uses extracted DNA samples and is based on the amplification of genetic material using primers targeting the 18S rRNA gene and kDNA minicircles that are specific to the *Leishmania* genus [8]. An in-site sensitivity of 87.6% and a specificity of 70.6% were reported. The authors also sent DNA samples for testing with the same Loopamp kit to the Academic Medical Centre in Amsterdam (AMC), and the sensitivity and specificity values were 92.2% and 94.1%, respectively.

The authors also showed that, in addition to an inter-site variability in accuracy between NMLCP and AMC, the sensitivity and specificity can also vary according to clinical characteristics such as disease duration and type of lesion. Variation in accuracy was also observed in an in-series use of both index techniques evaluating the Loopamp performance in CL Detect-negative patients. Paradoxical results in the specificity of the in-series evaluation were observed when comparing the NMLCP and AMC centres.

The article presents data with good external validation and shows that there is some unpredictability in the accuracy of these tests, which can even be caused by a change in the processing site. They also showed that the partnership of local authorities with reference laboratories in countries with endemic leishmaniasis can be a solution for difficult parasite identification. It is also clear that this partnership is useful as long as the proposed complementary test has a simple and cost-effective sampling technique.

Accuracy studies that comply with state-of-the-art methodological recommendations tend to achieve lower sensitivity and specificity

DOI of original article: <https://doi.org/10.1016/j.ebiomed.2018.10.063>.

* Corresponding author at: Hospital Universitário de Brasília – HUB, SGAN 605, Av. L2 Norte, 70910-900, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

E-mail address: cirogomes@unb.br (C.M. Gomes).

¹ All authors contributed equally.

<https://doi.org/10.1016/j.ebiomed.2018.11.011>

2352-3964/© 2018 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

results when compared to studies performed in very controlled environments [9]. Studies that include healthy controls, lack a clear case definition, and do not use blinded evaluators for testing can report biased results that can reach 100% specificity and sensitivity.

It is possible to conclude that it is imperative to continue the search for sensitive techniques that can directly identify *Leishmania*. The necessity of applying modern techniques in regions with challenging socioeconomic conditions poses problems that need to be addressed. Investing in simple sampling techniques and forming partnerships between centres in endemic regions and reference laboratories are possible methods of improving the control of neglected infectious diseases.

Authors' contributions

Patrícia Shu Kurizky: Literature search, writing, data interpretation;
Licia Maria Henrique da Mota: Literature search, writing, data interpretation;
Ciro Martins Gomes: Literature search, writing, data interpretation.

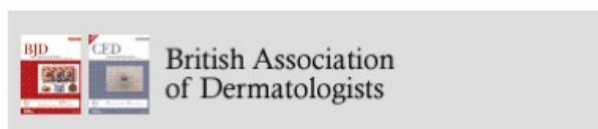
Acknowledgements

We declare that the authors did not receive funding for the present manuscript and declare no conflicts of interest.

References

- [1] Alvar J, Vélez ID, Bern C, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE* 2012;7(5):e35671.
- [2] Gomes CM, de Paula NA, de Moraes OO, Soares KA, Roselino AM, Sampaio RNR. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. *An Bras Dermatol* 2014;89(5):701–9.
- [3] Adams ER, Versteeg I, Leeflang MMG. Systematic review into diagnostics for Post-Kala-Azar dermal Leishmaniasis (PKDL). *J Trop Med* 2013;150746–8.
- [4] Sevilha-Santos L, ACM Santos Júnior Dos, Medeiros-Silva V, et al. Accuracy of qPCR for quantifying *Leishmania* kDNA in different skin layers of patients with American tegumentary leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect* 2018. S1198–743X(18)30365–3 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Accuracy+of+qPCR+for+quantifying+leishmania+kDNA+in+different+skin+layers+of+patients+with+American+tegumentary+leishmaniasis>.
- [5] Gomes CM, Cesetti MV, de Paula NA, et al. Field validation of SYBR® Green- and TaqMan®-based real-time PCR using biopsy and swab samples to diagnose American tegumentary leishmaniasis in a *Leishmania* (V.) *braziliensis* endemic area. *J Clin Microbiol* 2017;55(2):526–34.
- [6] Gomes CM, Mazin SC, Santos ERD, et al. Accuracy of mucocutaneous leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: Systematic literature review and meta-analysis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015;110(2):157–65.
- [7] Vink MM, Nahze SM, Rahimi H, et al. Evaluation of point-of-care tests for cutaneous leishmaniasis diagnosis in Kabul, Afghanistan. *EBioMedicine*; 2018. S2352–3964(18)30483–3.
- [8] Ibarra-Meneses AV, Cruz I, Chicharro C. Evaluation of fluorimetry and direct visualization to interpret results of a loop-mediated isothermal amplification kit to detect *Leishmania* DNA. *Parasit Vectors* 2018; 2018;11(1):250.
- [9] Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig I, et al. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *BMJ* 2015 351:h5527.

Apêndice E – Cross-sectional screening study for *Leishmania* DNA and antibodies in biologic-treated psoriasis patients living in an area endemic for leishmaniasis



CROSS-SECTIONAL SCREENING STUDY FOR LEISHMANIA DNA AND ANTIBODIES IN BIOLOGIC-TREATED PSORIASIS PATIENTS LIVING IN AN AREA ENDEMIC FOR LEISHMANIASIS

Journal:	<i>British Journal of Dermatology</i>
Manuscript ID	BJD-2019-0846.R2
Manuscript Type:	Research Letter
Date Submitted by the Author:	22-Jun-2019
Complete List of Authors:	<p>Kurizky, Patricia; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas</p> <p>Gomes, Ciro; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Ciências Médicas</p> <p>Cesetti, Mariana; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas</p> <p>Martins, Gladys; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology</p> <p>Regattieri, Neysa Aparecida; Hospital Universitário de Brasília, Imagy Diagnosis</p> <p>Marianelli, Fernanda; Hospital Universitário de Brasília, Dermatology</p> <p>Sevilha-Santos, Lais; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Programa de pós graduação em Ciências Médicas</p> <p>Medeiros-Silva, Viviane; Universidade de Brasília, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde</p> <p>de Paula, Natália ; Universidade de São Paulo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Dermatology</p> <p>Frade, Marco Andrey; Universidade de São Paulo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Dermatology</p> <p>da Silva, Eduardo; Universidade de Brasília, Statistics</p> <p>da Mota, Licia Maria; Universidade de Brasília Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Ciências Médicas; Hospital Universitário de Brasília, Rheumatology</p>

ANEXOS

Anexo 1 – Índice de Gravidade da Área de Psoríase

Avaliação PASI – Índice de Gravidade da Área de Psoríase

	Escore de gravidade*			Escore de extensão**	Totais parciais
	Eritema	Espessura	Descamação		
Cabeça (C)				X_____	X0,1= _____
Tronco (T)				X_____	X0,3= _____
Membros superiores (S)				X_____	X0,2= _____
Membros inferiores (I)				X_____	X0,4= _____

*Escore de gravidade

- 0 = ausente
- 1 = discreto
- 2 = moderado
- 3 = intenso
- 4 = muito intenso

**Escore de extensão

- 0 = ausência
- 1 = até 10% do segmento
- 2 = 10-29% do segmento
- 3 = 30-49% do segmento
- 4 = 50-69% do segmento
- 5 = 70-89% do segmento
- 6 = 90-100% do segmento

Anexo 2 – Índice de Gravidade Ungueal em Psoríase

NAPSI – Índice de Gravidade Ungueal da Psoríase

	1 st FINGER	2 nd FINGER	3 rd FINGER	4 th FINGER	5 th FINGER																																								
LEFT HAND	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
RIGHT HAND	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>L</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>L</td></tr></table>	M	P	M	L	M	P	M	L	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P	<table border="1"><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr><tr><td>M</td><td>P</td><td>M</td><td>P</td></tr></table>	M	P	M	P	M	P	M	P
M	P	M	L																																										
M	P	M	L																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
M	P	M	P																																										
SUM: MATRIX = _____	PLATE = _____	TOTAL = _____																																											

Matrix (M): cupuliform depressions,
leukonychia, red spots in the lunula, crumbling.

Plate (P): onycholysis, splinter hemorrhages,
subungual hyperkeratosis, oil stains.

Anexo 3 – Índice de Qualidade de vida em Dermatologia

DLQI – Índice de Qualidade de Vida em Dermatologia

Este questionário visa a medir o quanto o problema de pele que você tem afetou sua vida durante a semana que passou.

Escolha apenas uma resposta para cada pergunta e marque um X sobre a alternativa correspondente.

1. O quanto sua pele foi afetada durante a semana que passou por causa de coceira, inflamação, dor ou queimação?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada
-------------------	------------	------------	--------

2. Quanto constrangimento ou outro tipo de limitação foi causado por sua pele durante a semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada
-------------------	------------	------------	--------

3. O quanto sua pele interferiu nas suas atividades de compras ou passeios, em casa ou locais públicos, durante a semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

4. Até que ponto sua pele interferiu na semana que passou com relação às roupas que você normalmente usa?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

5. O quanto sua pele afetou qualquer uma das suas atividades sociais ou de lazer na semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

6. Quão difícil foi para você praticar esportes durante a semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

7. Sua pele impediu que você fosse trabalhar ou estudar durante a semana que passou?

3 sim	0 não	0 sem relevância
-------	-------	------------------

Em caso negativo, sua pele já foi problema para você no trabalho ou na vida escolar?

2 bastante	1 um pouco	0 nada
------------	------------	--------

8. Quão problemática se tornou sua relação com o(a) parceiro(a), amigos próximos ou parentes, por causa de sua pele?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

9. Até que ponto sua pele criou dificuldades na sua vida sexual na semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

10. Até que ponto seu tratamento dermatológico criou problemas para você na semana que passou?

3 realmente muito	2 bastante	1 um pouco	0 nada/sem relevância
-------------------	------------	------------	-----------------------

Anexo 4 – Folha de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FM/UnB

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação do perfil de quimiocinas e citocinas séricas de pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica tratados com metotrexato e drogas biológicas

Pesquisador: PATRICIA SHU KURIZKY

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 63183816.9.0000.5558

Instituição Proponente: Hospital Universitário de Brasília - HUB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.262.212

Apresentação do Projeto:

Vide parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Vide parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Vide parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora responsável anexa o TCLE corrigido, contemplando as modificações na metodologia, qual seja, de que será realizada pesquisa para identificar o DNA de Leishmania, Mycobacterium tuberculosis e Mycobacterium leprae durante o processamento do sangue coletado no Laboratório de Dermatocologia; e que se os mesmos forem identificados o paciente será avisado, e receberá tratamento e acompanhamento adequados. Além disso, obedecendo a orientação da CONEP, esta modificação encontra-se devidamente destacada no documento. O cronograma foi reajustado e prevê a "seleção de voluntários, coleta de dados e processamento do material" a partir de 01/09/2017.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram acrescentados o Projeto detalhado, o TCLE corrigido, e o projeto inserido na plataforma.

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 2.262.212

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de projeto transversal, analítico voltado à dissertação de doutorado da pesquisadora responsável, cuja emenda visa ajustes na metodologia. As pendências foram adequadamente sanadas e o parecer é pela aprovação, salvo melhor juízo do CEP-FM.

Considerações Finais a critério do CEP:

Emenda-1 apreciada na 6ª Reunião Ordinária do CEP-FM-UnB-2017. Após apresentação do parecer do (a) Relator (a), aberta a discussão para os membros do Colegiado, foi Aprovada.

De acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar através de Notificações: relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_937674 E1.pdf	27/07/2017 18:33:18		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetocitocinaspxcep2.doc	27/07/2017 18:32:54	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	27/07/2017 18:31:13	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	06/06/2017 00:20:54	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Declaração de Pesquisadores	responsabilidade0916006.pdf	29/09/2016 16:58:50	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	portal0916005.pdf	29/09/2016 16:58:17	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	onus0916004.pdf	29/09/2016 16:57:33	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	confidencialidade0916003.pdf	29/09/2016 16:56:43	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	concordancia0916002.pdf	29/09/2016 16:56:00	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	cartacep0916.pdf	29/09/2016 16:55:00	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3107-1918 E-mail: ceptm@unb.br

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 2.262.212

Outros	anuencia0916.pdf	29/09/2016 16:53:34	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto0916008.pdf	29/09/2016 16:49:21	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cooparticipacaofiocruz.pdf	29/08/2016 20:06:31	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	CLOlindo.pdf	29/08/2016 20:04:07	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	CLPatricia.pdf	29/08/2016 20:02:46	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	CLLicia.pdf	29/08/2016 20:02:23	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	CLGladys.pdf	29/08/2016 20:01:59	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Outros	CLAndrea.pdf	29/08/2016 20:01:38	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	29/08/2016 19:57:50	PATRICIA SHU KURIZKY	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASÍLIA, 06 de Setembro de 2017

Assinado por:

Florêncio Figueiredo Cavalcanti Neto
(Coordenador)

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3107-1918 E-mail: cepfm@unb.br