

**DANIEL GLEISON CARVALHO**

**Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência  
primária**

Monografia apresentada ao programa de Residência Médica em  
Infectologia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas

Orientador: Dr. José Angelo Lauletta Lindoso

Co-orientador: Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos

**São Paulo**

**2020**

**DANIEL GLEISON CARVALHO**

**Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência  
primária**

Monografia apresentada ao programa de Residência Médica em  
Infectologia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas

Orientador: Dr. José Angelo Lauletta Lindoso

Co-orientador: Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos

**São Paulo**

**2020**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me trazer paz, felicidade e mansidão em momentos intranquilos.

A minha família, pela inspiração diária de cada um e apoio, sempre presentes em cada passo que dou. Especialmente a meu pai, João (*in memoriam*), que partiu deste mundo em 2018, mas deixa grandes ensinamentos a todos que o conheceram.

Ao Dr. José Angelo, pela orientação do projeto e ajuda na elaboração da mesma, embora em meio a um ano muito desafiador, conseguiu me dar todo o apoio necessário no projeto.

Ao Dr. Dewton, pela co-orientação do trabalho e pela ajuda na elaboração da mesma.

Ao Instituto de Infectologia Emílio Ribas, local em que aprendi a cuidar de pacientes tão especiais e complexos ao mesmo tempo e conhecer excelentes profissionais.

Ao Ricardo, pelo ombro amigo e por compartilhar os bons momentos.

A todos os colegas da residência médica, pela parceria e ajuda nos momentos difíceis.

A Isadora, Eduardo e Fernanda, por serem minha família nos últimos 3 anos, compartilharmos risos e lágrimas e cultivarmos uma amizade verdadeira.

A moradia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, por ser o melhor ambiente de estudos e de descanso que conheci.

Carvalho, Daniel Gleison

Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência primária/ Daniel Gleison Carvalho – São Paulo, 2020.

Monografia – Instituto de Infectologia Emílio Ribas

Orientador: Dr. José Angelo Lauletta Lindoso

Coorientador: Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos

Descritores: 1. Leishmaniose visceral 2. Síndromes de imunodeficiência

## SUMÁRIO:

Resumo

Abstract

1.INTRODUÇÃO	8
2. JUSTIFICATIVAS	12
3. OBJETIVOS	13
4. PACIENTES E MÉTODOS	14
5. ASPECTOS ÉTICOS	14
6. SUPORTE FINANCEIRO	15
7. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	15
8.RELATO DOS CASOS	16
9.DISSCUSSÃO	19
10.CONCLUSÃO	28
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
12.ANEXOS	35

## RESUMO

### **Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência primária**

A leishmaniose visceral (LV) é uma das doenças causadas pelos protozoários do gênero *Leishmania* e que tem como vetor flebotomíneos. Clinicamente, se caracteriza por febre, pancitopenia, perda ponderal e hepatoesplenomegalia, podendo também ser assintomática. Se não tratada, apresenta alta letalidade. Nós reportamos dois casos de LV como marcadores de síndromes de imunodeficiências primárias não diagnosticadas previamente. No primeiro caso foi diagnosticada deficiência de GATA2 e no segundo foi diagnosticada síndrome de Griscelli.

A LV permanece como uma importante causa da morbimortalidade e sua incidência aumentou em pacientes imunossuprimidos. Condições que levam a imunossupressão favorecem a doença por pior controle imunológico do protozoário. Há poucos dados sobre a melhor opção de tratamento em imunocomprometidos HIV-negativos, sendo recomendada anfotericina B lipossomal em doses maiores por maior eficácia e menor toxicidade. Há escassez de dados na literatura sobre aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos em pacientes com imunodeficiências primárias.

A deficiência de GATA2 compreende um espectro de alterações, desde infecções bacterianas, virais, micobacterianas não tuberculosas e fúngicas, monocitopenia, linfopenia B e NK, linfedema, proteinose alveolar, leucemias mieloides, citopenias e mielodisplasia. Não encontramos na literatura casos prévios de LV como uma das infecções relacionadas à deficiência de GATA2.

A síndrome de Griscelli é um distúrbio genético autossômico recessivo multissistêmico que envolve hipopigmentação associada a manifestações neurológicas ou defeitos imunológicos. Não encontramos na literatura casos de LV associados a essa síndrome.

Considerando os casos descritos, a pesquisa de imunodeficiências pode ser realizada em pacientes com leishmaniose visceral, principalmente em recidivas, e a ausência de história de infecções de repetição na infância não deve excluir a hipótese de imunodeficiências primárias.

## ABSTRACT

### **Visceral leishmaniasis as a diagnostic marker of primary immunodeficiency**

Visceral leishmaniasis (VL) is one of the diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania* and its vector are the subfamily phlebotominae mosquitoes. Clinically, it is characterized by fever, pancytopenia, weight loss and hepatosplenomegaly, and may also be asymptomatic. If untreated, it has high lethality. We report 2 cases of VL in patients admitted to our institute in the context of previously undiagnosed primary immunodeficiencies. In the first case GATA2 deficiency was diagnosed and in the second case Griscelli syndrome was diagnosed.

VL remains an important cause of morbidity and mortality and its incidence has increased in immunosuppressed patients. Conditions that lead to immunosuppression favor the disease by worse protozoal immune control. There is little data on the best treatment option for HIV-negative immunocompromised patients, and liposomal amphotericin B is recommended at higher doses for greater efficacy and lower toxicity. There is scarcity of data in the literature on clinical, diagnostic and therapeutic aspects in patients with primary immunodeficiencies.

GATA2 deficiency comprises a spectrum of changes from bacterial, viral, non-tuberculous and fungal mycobacterial infections, monocytopenia, lymphopenia of B and NK cells, lymphedema, alveolar proteinosis, myeloid leukemias, cytopenias, and myelodysplasia. We have not found previous cases of VL as one of the infections related to GATA2 deficiency.

Griscelli's syndrome is an autosomal recessive multisystem genetic disorder that involves hypopigmentation associated with neurological manifestations or immune defects. We found no cases of VL associated with this syndrome.

Considering the cases described, immunodeficiency screening may be performed in patients with visceral leishmaniasis, especially in relapses, and the absence of a history of recurrent childhood infections should not exclude the hypothesis of primary immunodeficiencies.

## 1.INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença com espectro clínico variado e gravidade se não tratada. É causada por protozoários do gênero *Leishmania*, compreendendo várias espécies, com caráter zoonótico ou antroponótico. É caracterizada por manifestações cutâneas que podem ser auto-limitadas, até doença visceral com letalidade de até 100% se não tratada.<sup>1</sup>

### 1.1: EPIDEMIOLOGIA

A leishmaniose visceral (LV) se concentra principalmente em 7 países: Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão, correspondendo a mais de 90% dos casos encontrados. A incidência da leishmaniose visceral (LV) tem diminuído nos últimos anos, porém permanece elevada com aproximadamente 50 mil a 90 mil casos novos diagnosticados em 2017. Na América Latina, a quase totalidade dos casos de leishmaniose visceral ocorre no Brasil.<sup>1,2</sup> Os vetores são os insetos do gênero *Phlebotomus*, com diferentes espécies ao redor do mundo, mas também por insetos do gênero *Acacia* e *Balanites*. Dentre os reservatórios, o homem é o principal para *L. donovani* e o cão para *L. infantum*, apesar de outros mamíferos também apresentarem capacidade para abrigar o protozoário. Apesar de incomum, outras formas de transmissão são descritas, como transplante de órgãos, hemotransfusão, acidentes de laboratório, compartilhamento de seringas por usuários de drogas injetáveis e transmissão vertical.<sup>1,3,4</sup>

### 1.2: MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A LV pode ter início agudo ou incipiente. Vários sinais e sintomas podem ocorrer no contexto da LV, mas febre, esplenomegalia, hepatomegalia e perda ponderal são os sintomas mais prevalentes. Dentre os exames laboratoriais, a pancitopenia costuma estar presente, além de hipergamaglobulinemia. Coloração enegrecida da pele ocorre em indivíduos acometidos de LV no subcontinente Indiano, fato que deu origem ao termo hindu *kala-azar*, como tradução para febre negra. Em LV causada por *L. donovani*, uma forma de complicação, conhecida como leishmaniose dérmica pós calazar pode estar presente, manifestando-se como

lesões maculares até nódulos difusos na pele. O período de incubação pode variar entre 2 semanas até 8 meses. <sup>1,5</sup>

### **1.3: DIAGNÓSTICO**

A detecção de amastigotas em aspirado de medula óssea, gânglios ou baço e detecção de promastigotas em culturas provenientes dessas espécimes clínicas são o padrão ouro para o diagnóstico de leishmaniose visceral. A sensibilidade é maior em aspirado esplênico, seguido de microscopia de medula óssea e de linfonodos. Em pacientes infectados pelo HIV, a parasitemia é importante e pode ser utilizada para diagnóstico. Os exames sorológicos como ELISA, imunofluorescência e *western blot* tem boa sensibilidade para infecção, todavia em indivíduos assintomáticos ou com doença curada também podem apresentar anticorpos, com resultados falso-positivos para a LV. Os testes rápidos utilizando antígeno rK-39 apresentam uma sensibilidade de 97% e 85% no subcontinente Indiano e leste Africano, desde que levada em consideração a história clínica do paciente. Os testes rápidos têm baixa sensibilidade em pacientes imunodeprimidos. O teste KAtex permite a detecção de um carboidrato antigênico na urina e apresenta boa especificidade para LV. O uso de biologia molecular, como a reação em cadeia de polimerase (PCR) para *Leishmania*, apresenta uma boa sensibilidade, mas também deve ser interpretado conforme o contexto clínico. O teste de Montenegro, um teste de hipersensibilidade cutânea tardia, apresenta-se negativo na doença ativa e não deve ser usado no diagnóstico de LV. <sup>6,7</sup>

### **1.4: TRATAMENTO**

Os antomoniais pentavalentes foram utilizados por décadas para o tratamento de LV, nas formas de estibogluconato de sódio e antimoniato meglumina, com maior uso do primeiro devido a melhor resposta terapêutica. Apresentam como efeitos adversos, principalmente dor no local de aplicação, hiperlamilasemia e cardiotoxicidade manifestada por alargamento do intervalo QT corrigido e arritmia cardíaca. A anfotericina lipossomal surge como tratamento de primeira linha pela menor toxicidade e eficácia semelhante aos antimoniais. Os pacientes imunocomprometidos em geral, principalmente os que vivem com HIV, requerem maiores doses de anfotericina, uma vez que apresentam maior gravidade da doença e mais recidivas. <sup>8,9</sup>

## 1.5: LEISHMANIOSE EM PACIENTES IMUNOSSUPRIMIDOS

O curso clínico da leishmaniose visceral é afetado no contexto de imunossupressão e coinfeção com helmintos. A resposta imune contra a *Leishmania* é do tipo celular, com ativação de macrófagos induzida por linfócitos T helper do tipo I, e várias condições que alteram essa resposta podem predispor a maior risco de LV.<sup>9,10</sup>

Pacientes com infecção pelo HIV apresentam risco aumentado para desenvolver leishmaniose visceral em locais endêmicos, além de maior severidade da doença. Foi relatada no Brasil que 8,5% dos pacientes com LV eram infectados pelo HIV. Em pacientes que receberam transplante de órgãos sólidos, LV é uma rara condição, porém houve um aumento importante do número de casos desde os anos 90 em áreas endêmicas, sendo que um dos principais fatores de risco é a proximidade de locais com transmissão de *Leishmania*. Outras formas de imunossupressão descritas associadas à LV são o uso de corticoesteróides, imunomoduladores e imunobiológicos em doenças reumatológicas, além de pacientes em uso de quimioterapia por neoplasias. Indivíduos em desnutrição protéica e que apresentam deficiências nutricionais podem apresentar maior progressão clínica de LV, além da piora do status nutricional nos pacientes com LV.<sup>10,11</sup> Em um estudo realizado com crianças brasileiras, o surgimento de LV foi quase três vezes maior nas que apresentavam malnutrição.<sup>12</sup>

Os pacientes com imunossupressão costumam apresentar sinais e sintomas atípicos e outras doenças devem ser consideradas no diagnóstico diferencial, tal como infecções por micobactérias, linfoma ou neoplasias hematológicas. A febre costuma numa fase inicial ser intermitente e após tornar-se contínua, além do surgimento da hepatoesplenomegalia. Laboratorialmente, o achado de pancitopenia é comum, assim como hipergamaglobulinemia, além de ser possível a detecção de anticorpos anti-dsDNA e antinucleares, confundindo com o diagnóstico de colagenoses.<sup>10,12</sup>

Entre os testes diagnósticos, microscopia do aspirado esplênico garante uma especificidade e sensibilidade maior do que 90%. Microscopia da medula óssea e do aspirado de linfonodos apresentam sensibilidade menor, mas com alta

especificidade. A cultura de *Leishmania* é demorada, mas permite aumento de sensibilidade se realizada.<sup>10,12</sup>

Em relação a testes indiretos para o diagnóstico, a imunofluorescência apresenta boa sensibilidade em pacientes com HIV ou na vigência de tratamento anti-TNF, mas não podem ser utilizados para exclusão de doença caso sejam não reagentes. A reação em cadeia da polimerase convencional e em tempo real apresentam também alta sensibilidade e especificidade e podem ser utilizadas.<sup>10,12</sup>

O tratamento da LV em pacientes com LV e imunodeficiência se baseia no uso de antimonial pentavalente ou anfotericina B, entretanto nesta população os antimoniais são menos efetivos e apresentam maior toxicidade, desta forma a anfotericina B é o medicamento de escolha para tratamento da LV nessa população, principalmente na sua formulação lipossomal, por apresentar menor toxicidade e maior efetividade. A miltefosina é uma opção de tratamento para a LV, sendo que falhas são relatadas na doença pela *L. infantum*. O tratamento de pacientes imunossuprimidos não-HIV foi estudado em pequenos trabalhos científicos, como os transplantados de órgãos sólidos, e o uso da anfotericina é recomendado por melhor segurança e eficácia.<sup>10,12</sup>

## **1.6: DEFICIÊNCIA DE GATA2 E RELAÇÃO COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

GATA2 é um fator de transcrição essencial para hematopoiese e angiogênese de vasos linfáticos. As mutações do gene levam à sua deficiência e apresentam um padrão autossômico dominante. A deficiência de GATA2 compreende um espectro de alterações, que envolvem desde infecções bacterianas, virais, micobacterianas não tuberculosas e fúngicas, monocitopenia, linfopenia de células B e NK, linfedema, proteinose alveolar, leucemias mieloides, citopenias e mielodisplasia. As manifestações clínicas se tornam evidentes em crianças em fase escolar e adultos. O transplante de medula óssea tem sido usado com sucesso na recuperação hematopoiética, além da proteinose alveolar. Não há descrição na literatura da associação de LV e deficiência de GATA2. Em um estudo realizado com hamsters, Lafuse et al (2013). não encontraram alterações nos níveis de GATA2 mRNA na infecção daqueles infectados por *L. donovani*.<sup>13,14</sup>

## **1.7: SÍNDROME DE GRISCELLI (SG) E RELAÇÃO COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

A síndrome de Griscelli é um distúrbio genético autossômico recessivo multissistêmico que ocorre por deficiência da GTPase Rab27a, com defeito na exocitose de melanossomos, mas também de grânulos citotóxicos das células T e das células *Natural Killer*, podendo cursar com hipopigmentação (caracteristicamente o cabelo possui aspecto prateado e pele pálida, com capacidade de bronzear quando exposta ao sol), associada a manifestações neurológicas ou defeitos imunológicos. A síndrome de Griscelli tipo 2 é caracterizada por hipogamaglobulinemia e ausência de reações de hipersensibilidade do tipo tardia e infecções de pele e pulmonares de repetição graves. É classificada em 3 tipos, conforme a mutação em genes responsáveis por proteínas de transporte de melanossomos. O prognóstico é pobre, principalmente na primeira década de vida. Não há descrição da associação de leishmaniose visceral e essa síndrome.<sup>15,16</sup>

## **2. JUSTIFICATIVAS**

A LV é uma das doenças infecciosas que ganham importância no contexto de saúde pública do Brasil e em outras regiões endêmicas. Sua potencial gravidade requer que diagnóstico e tratamento precoce sejam instituídos. Todavia, em certos pacientes, como os imunossuprimidos, o quadro clínico é atípico e nem todas as ferramentas de diagnóstico apresentam sensibilidade elevada. Portanto, elevado grau de suspeição nas áreas endêmicas nesses pacientes é fundamental para que se obtenha um desfecho favorável.

Os dados na literatura que associam leishmaniose visceral e imunossupressão se concentram principalmente em pacientes infectados pelo HIV e em menor quantidade nos transplantados de órgãos sólidos, usuários de corticoesteróides, imunomoduladores, imunobiológicos em doenças reumatológicas e pacientes em tratamento de neoplasias sólidas e hematológicas. Todavia, há escassez de dados na literatura sobre leishmaniose e imunodeficiências primárias, condições cada vez mais diagnosticadas pela maior disponibilidade de exames específicos para diagnóstico.

### **3.OBJETIVOS:**

Primário: descrever a evolução de dois pacientes com leishmaniose visceral, internados no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, que foram diagnosticados como portadores de imunodeficiências primárias (síndrome de Griscelli e deficiência de GATA2)

Secundário: elaborar uma revisão da literatura com enfoque nas imunodeficiências primárias e leishmaniose visceral.

#### **4. PACIENTES E MÉTODOS:**

**Desenho:** relato de casos, monocêntrico.

**Local:** IIER

**Período:** de junho de 2019 a dezembro de 2019

**Revisão do prontuário:** foi acessado o prontuário dos dois pacientes e descrita a evolução dos casos, com enfoque na apresentação clínica, diagnóstico e tratamento enquanto internados na instituição.

**Revisão da literatura:** foi realizada na base de dados PubMed e Google Acadêmico com as palavras-chave: leishmaniose visceral, imunodeficiências primárias, síndrome de Griscelli e deficiência de GATA2.

**Análise Estatística:** não se aplica para relato de casos

#### **5. ASPECTOS ÉTICOS:**

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, na Seção de Pesquisas e Trabalhos Científicos (SPTC), seguindo-se às diretrizes sobre pesquisa em seres humanos (protocolo 32/2019).

A confidencialidade foi garantida, de forma que nenhum dado pessoal que permita identificação dos pacientes foi divulgado, de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Não há conflito de interesse referente ao estudo.

##### **5.1 TCLE (TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO E TERMO DE ASSENTIMENTO):**

Foi tentado contato por via telefônica com os pacientes, mas sem sucesso, foi portanto utilizado o termo de confidencialidade.

## **6. SUPORTE FINANCEIRO:**

Os gastos do estudo foram custeados pelo autor. Envolveu custos com impressão em papel, compra de caneta e papel sulfite.

## **7. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO:**

- Junho-Outubro de 2019: Revisão bibliográfica e elaboração do projeto.
- Novembro de 2019: Submissão do projeto ao Comitê de Ética do IIER.
- Novembro de 2019: Levantamento dos dados de prontuário
- Novembro de 2019: Levantamento da literatura
- Dezembro de 2019: Revisão da monografia.
- Janeiro de 2019: Entrega e apresentação da monografia.

## 8. RELATO DOS CASOS

O primeiro paciente que relatamos é do sexo masculino, 37 anos, procedente de São Mateus, estado do Maranhão, trabalhou como borracheiro e cortador de cana, filho de um casamento consanguíneo (mãe prima em segundo grau do pai), etilista eventual. Apresentou aos 21 anos quadro de artralgia de caráter inflamatório que acometia cotovelos, punhos, mãos, joelhos e tornozelos, sendo diagnosticado na ocasião como artrite reumatoide, e recebeu tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais e prednisona, com melhora dos sintomas, tendo continuado o tratamento com corticoterapia (10 mg/dia de prednisona) por um período de 7 anos.

Aos 37 anos de idade, apresentou história de febre diária de até 39°C por 5 meses, astenia, perda de aproximadamente 10 kg e aumento do volume abdominal. Ao exame físico (em relatório de transferência para nosso instituto) evidenciavam-se pele e mucosas descoradas e esplenomegalia. Exames laboratoriais demonstravam pancitopenia (hemoglobina 7,8 g/dL, 500 neutrófilos/mm<sup>3</sup> e 42 mil plaquetas/mm<sup>3</sup>), além de hipoalbuminemia, onde foi feita a hipótese de leishmaniose visceral e foi transferido ao nosso instituto para investigação laboratorial complementar. Em aspirado de medula óssea foi evidenciava hipocelularidade relativa de série granulocítica, sem visualização de amastigotas de *Leishmania*. Biópsia da medula óssea com aumento proporcional de granulócitos. Após 2 testes rápidos rK-39 negativos foi realizado PCR para *Leishmania* em aspirado de medula óssea, com detecção e sorologia para *Leishmania* reagente (pelo método ELISA), e sendo realizado um terceiro teste rápido, tornou-se reagente. Também foi realizada biópsia hepática, com imunohistoquímica negativa para *Leishmania*. Foi realizada investigação de imunodeficiências neste paciente: em imunofenotipagem contagem de linfócitos CD4<sup>+</sup> de 154 cél/mm<sup>3</sup>, ausência de linfócitos B, 8 células NK/mm<sup>3</sup> e sequenciamento genômico total foi compatível com a deficiência de GATA2.

Inicialmente, o paciente foi tratado com praziquantel por também apresentar sorologia positiva para esquistossomose mansônica (IgM). Após confirmação do diagnóstico de leishmaniose visceral foi instituído tratamento com anfotericina B lipossomal (ABL) em dose total cumulativa de 40mg/kg (em um período de 10 dias) Após o tratamento de indução, o paciente não apresentou melhora clínica/laboratorial. Foi iniciado tratamento com interferon-gama e foi retratado com ABL na mesma dose, associado antimonial pentavalente na dose de 10mg/kg por 16

dias (este suspenso após aumento de intervalo QT), além de tratamento empírico para micobactérias do complexo *Avium* com rifabutina, claritromicina e etambutol.

O paciente apresentou melhora clínica após 5 dias de tratamento com ABL e recebeu alta de nossa instituição. Após 1 mês da alta hospitalar, foi reinternado para tratamento antiviral intravenoso de herpes zoster localizado no dermatomo T7, apresentando melhora com o tratamento. Até a publicação deste relato, o paciente já havia apresentado resolução do quadro de herpes zoster, resolução da esplenomegalia, mantido tratamento de MAC e recebendo profilaxia com sulfametoxazol-trimetoprim e apresentando recuperação da pancitopenia (hemoglobina 11,6g/dl, 1900 neutrófilos/mm<sup>3</sup>, 155 mil plaqueta/mm<sup>3</sup>). O paciente foi encaminhado para realização de transplante de células tronco hematopoiéticas em outro serviço.

O segundo paciente é do sexo masculino, 13 anos, procedente de São Paulo, com história de viagem aos 12 anos para o norte de Minas Gerais (sudeste brasileiro) e tinha um cachorro em sua casa. Apresentava quadro de febre em dias alternados, predominantemente vespertina, de até 38° C, palidez, aumento de volume abdominal e perda ponderal subaguda. Dentre os exames complementares realizados em outro serviço, apresentava pancitopenia, tomografia computadorizada de abdome evidenciando hepatoesplenomegalia e aspirado de medula óssea com presença de amastigostas de *Leishmania*. Recebeu tratamento com ABL na dose de 35 mg/kg. Após o tratamento, apresentou melhora de febre, plaquetopenia e resolução de hepatoesplenomegalia.

Após 4 meses de alta hospitalar, apresentou novamente quadro febril e plaquetopenia no seguimento ambulatorial, sendo submetido a novo aspirado de medula óssea onde evidenciou-se amastigostas de *Leishmania*, além de crescimento destas em cultura de medula óssea. Recebeu tratamento com antimonial pentavalente e imunoglobulina humana intravenosa, com melhora clínica e laboratorial.

Após 3 semanas da nova alta hospitalar, apresentou 7 dias de febre, fraqueza, palidez e aumento de volume abdominal, baço a 23 cm do rebordo costal esquerdo e fígado a 5 cm do rebordo costal direito, sendo internado novamente para investigação do quadro. Sorologia para *Leishmania* pelo método ELISA e teste rápido rK-39 não reagentes. Biópsia de medula óssea evidenciava reação inflamatória linfocitária e histiocitária de padrão granulomatoso, e no aspirado de

medula óssea sem amastigotas. Foi tratado novamente sem confirmação diagnóstica com ABL. Em avaliação por equipe de Imunologia, paciente tinha fenótipo sugestivo de Síndrome de Griscelli (cabelos e sobrancelhas prateados), sendo realizado sequenciamento genômico total que evidenciou mutação no gene RAB27A, compatível com o diagnóstico de Síndrome de Griscelli tipo II. Fez ABL a cada 15 dias como profilaxia secundária por um período de 6 meses, com seguimento em serviço de Imunologia de outra instituição.

## 9. DISCUSSÃO

### 9.1 IMUNIDADE CONTRA ESPÉCIES DE LEISHMANIA:

#### 9.1.1 Resposta Inata

A resposta imune protetora contra as espécies do gênero *Leishmania* é essencialmente mediada por células. A resposta do tipo Th2 é associada com suscetibilidade à infecção, e a resposta Th1 é associada ao controle da infecção. Além da importância da resposta imunológica, fatores ambientais e do agente também contribuem para maior suscetibilidade à infecção<sup>17</sup>.

Após minutos da inoculação de promastigotas metacíclicos na pele, o reconhecimento dos parasitas é feito por receptores de reconhecimento de padrão e de complemento, localizados nos neutrófilos, macrófagos e nas células NK, via receptores semelhantes a *Toll* dos tipos 2, 3, 4, 7, e 9. Após o reconhecimento, uma cascata de sinalização intracelular se desenvolve, culminando no início da resposta inflamatória e no controle da proliferação do parasita<sup>18</sup>.

Os neutrófilos atuam no processo de fagocitose e produção de espécies reativas de oxigênio. Todavia, o parasita tem como um de seus mecanismos de evasão a inibição do burst oxidativo. Em modelos animais, os neutrófilos entram em apoptose em estágios mais avançados de doença, além de uma menor produção de superóxido<sup>19</sup>.

Os macrófagos também atuam no processo de fagocitose da *Leishmania*, e atuam na produção de IL-12, uma interleucina essencial para a produção de IFN-gama pelas células T CD4<sup>+</sup>. Macrófagos infectados por *Leishmania* perdem a capacidade de produção de IL-12, com maior incapacidade para o controle da infecção. Após a estimulação de macrófagos por IFN-gama, estes produzem óxido nítrico. Em situações de falha de ativação dos macrófagos, há propensão para invasão dos promastigostas nos tecidos. As células NK produzem também IFN-gama e são ativadas pela interação com as células dendríticas que também produzem IL-12<sup>17,20</sup>.

Os receptores de complemento também contribuem para iniciação de respostas inflamatórias, sendo que as vias clássica e alternativa ativadas contribuem

para a lise de até 90% dos parasitas pelo complexo de ataque à membrana, todavia o parasita pode usar receptores de complemento para entrada em células<sup>21</sup>.

### **9.1.2 Resposta adaptativa:**

Em modelos animais, as células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, inicialmente ativadas por células dendríticas, produzem IFN-gama, permitindo a ativação de macrófagos infectados, com posterior produção de radicais livres e óxido nítrico, que matam os parasitas. A suscetibilidade à LV é associada com produção aumentada de IL-10, uma citocina imunossupressora, sendo que esta é produzida pelas células T CD4<sup>+</sup> e T reguladoras<sup>22</sup>.

Vários fatores de virulência são secretados de superfície da *Leishmania* que interferem com a atividade do macrófago, como GP63, que cliva várias proteínas do macrófago, promovendo a sua inativação. A secreção de fosfatase ácida também defosforila proteínas do macrófago. A *Leishmania* também pode induzir a produção de IL-10 em macrófagos, que suprime a produção de IL-1, IL-12, TNF-alfa e óxido nítrico<sup>17,23</sup>.

## **9.2 IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS**

As imunodeficiências primárias (IDPs) se caracterizam por alterações na função do sistema imunológico, correspondendo a várias condições, podendo ser defeitos inatos ou até adquiridos, diferentemente de imunodeficiências secundárias. São consideradas condições raras, exceto a deficiência de IgA. Clinicamente, a maioria dos casos de IDP apresentam suscetibilidade elevada para infecções comuns<sup>24</sup>.

As imunodeficiências primárias se classificam conforme o tipo de imunidade comprometida: inata ou adaptativa. No componente da imunidade adaptativa, são descritos distúrbios de células B (mais comuns), células T ou combinada quando envolve ambas. No componente inato da imunidade, podem ocorrer distúrbios acometendo fagócitos (em função e desenvolvimento) e sistema complemento<sup>25</sup>.

A classificação mais recente pela União Internacional de Sociedade de Imunologia descreve 354 erros inatos da imunidade em várias subdivisões de imunodeficiências primárias:

- Imunodeficiências severas e combinadas;
- Imunodeficiências combinadas com características sindrômicas;
- Deficiências predominantemente de anticorpos;
- Desordens imunodesregulatórias;
- Defeitos de fagócitos;
- Defeitos da imunidade inata;
- Desordens autoinflamatórias;
- Deficiências de complemento;
- Fenocópias das imunodeficiências primárias<sup>26</sup>.

Em pacientes com defeitos no desenvolvimento e função das células T ou imunodeficiência combinada, infecções por agentes oportunistas podem acontecer, com maior ou menor intensidade e tempo de início de aparecimento conforme o tipo da imunodeficiência. Em pacientes com defeitos de células B e produção de anticorpos, as infecções por bactérias se sobressaem, principalmente em trato respiratório superior. Pacientes com defeitos de imunidade inata apresentam dificuldade em erradicação de infecções ou quadros atípicos de infecções comuns, como infecções piogênicas bacterianas, fúngicas em pele, trato respiratório, enquanto que indivíduos com disfunções do sistema complemento apresentam mais frequentemente infecções por agentes encapsulados ou apresentam desordens auto-ímmunes<sup>27</sup>.

O diagnóstico precoce das IDPs é importante para início do manejo adequado. Até 40% dos casos são diagnosticados na idade adulta. Existem 10 sinais de alarme classicamente descritos para imunodeficiências primárias (aplicando-se a crianças):

- 8 ou mais infecções do ouvido em 1 ano;
- 2 ou mais infecções de seios paranasais severas em 1 ano;
- 2 meses ou mais de uso de antibióticos com pouco efeito/melhora clínica;
- 2 ou mais pneumonias em 1 ano;
- Falha de uma criança em ganhar peso ou crescer normalmente;

- Abscessos de pele profundos ou orgânicos recorrentes;
- Candidíase oral ou na pele após 1 ano de idade;
- Necessidade de antibióticos intravenosos no controle de infecções;
- 2 ou mais infecções sistêmicas;
- História familiar de imunodeficiência primária;

A presença de um destes critérios indica avaliação de um imunologista. Dentre os exames laboratoriais, contagem de leucócitos e hematoscopia são os iniciais na avaliação, e dentre exames complementares posteriores, ensaios de proliferação de linfócitos e imunofenotipagem para contagem de células B, T e NK. A mensuração de níveis de IgG, IgM, IgA e IgE é utilizada na avaliação de desordens de células B e também a mensuração de títulos de anticorpos após imunização com certos antígenos (proteicos e polissacarídeos). Os fagócitos podem ser avaliados por ensaios de função e ensaios de estimulação de citocinas. O nível de componentes do sistema complemento e/ou função é utilizado em pacientes com suspeita de deficiências dos mesmos<sup>28</sup>.

Em pacientes com imunodeficiências combinadas, o tratamento envolve reposição de imunoglobulinas, tratamento de infecções, e esquemas de profilaxia com antibióticos e antifúngicos, além de isolamento hospitalar, sendo que vacinas de vírus vivo atenuado são contraindicadas. Em situações como imunodeficiência combinada severa, há indicação de transplante de células-tronco hematopoiéticas, além da terapia gênica e terapia de reposição enzimática. Em pacientes com defeitos de células B/anticorpos, o tratamento consiste na reposição de imunoglobulinas e em algumas situações profilaxia antibiótica, além de acompanhamento de função pulmonar e acuidade auditiva regular, uma vez que se associa perda de função nas deficiências de células B. Em desordens de fagócitos, além do tratamento de suporte é recomendado profilaxia com antibióticos e antifúngicos. Em deficiências do complemento, recomenda-se o uso de profilaxia antibiótica, além da vacinação para meningococo, pneumococo e *Haemophilus influenzae*. O prognóstico varia com a etiologia da disfunção/desordem imunológica<sup>29</sup>.

### **9.3 LEISHMANIOSE VISCERAL ASSOCIADA À IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS NA LITERATURA**

Relatamos 2 casos de pacientes com diagnóstico de imunodeficiência primária realizado após o diagnóstico de LV. Ao nosso conhecimento até o momento, não encontramos na literatura casos de pacientes com Leishmaniose Visceral associados à síndrome de Griscelli ou à deficiência de GATA2.

GATA binding protein 2 (GATA2), é um dos seis fatores de ligação GATA, que atuam regulando expressão gênica, sendo um regulador transcricional chave na hematopoiese, permitindo a sobrevivência de células tronco hematopoiéticas e a auto-renovação das mesmas, através de interação com vários fatores de transcrição. A cooperação com os fatores TAL1, LYL1, LMO2, ERG, FLI1 e RUNX1 forma uma unidade regulatória que se ligam a loci nas células hematopoiéticas primitivas. O gene GATA2 está localizado no braço longo do cromossomo 3 na posição 21.3. A deficiência de GATA2 pode acontecer após deleção gênica, mutação regulatória ou polimorfismo de nucleotídeos. O primeiro relato provém de 1972 de uma família islandesa com síndrome mielodisplásica/leucemia mielóide aguda associada com trissomia do 8 e anormalidade de Pelger-Huet<sup>14,30</sup>.

Em coortes americanas e europeias de pacientes com mutação documentada, as manifestações mais encontradas foram infecção pelo HPV, progressão para síndrome mielodisplásica, proteinose alveolar pulmonar, linfedema, infecções fúngicas e por micobactérias atípicas.

Os portadores da mutação são hematologicamente normais ao nascimento, sendo que os fenótipos hematológicos se manifestam com o tempo, e perda de células mononucleares parece ser comum a todos os pacientes sintomáticos.

As infecções em pacientes que portam a mutação de GATA2 são predominantemente secundárias à disfunção de imunidade mediada por células e dentre os principais substratos temos a monocitopenia, que leva a profunda disfunção de resposta de citocinas, com ausência da resposta IFN-gama/IL12. As infecções prevalentes são as micobacterioses atípicas (em 20-50% dos indivíduos), aspergilose (16%) e histoplasmose (9%), além de verrugas simples por todos os sorotipos de HPV (60-70%). Nosso paciente com deficiência de GATA2 foi tratado

empiricamente para micobacteriose atípica, e foi diagnosticado com leishmaniose visceral, nunca antes relatada nesta condição<sup>31</sup>.

Os pacientes e familiares com a deficiência documentada necessitam de aconselhamento genético. A mediana de sobrevida é de aproximadamente 60 anos e estes podem ser seguidos periodicamente com contagem de leucometria e mielograma anualmente. O transplante de células tronco hematopoiéticas reverte anormalidades hematológicas e imunológicas, além de melhora da doença pulmonar<sup>31-32</sup>.

A síndrome de Griscelli foi descrita pela primeira vez em 1978 em Paris por Griscelli e Siccardi, sendo que mais de 100 casos foram relatados até o momento. Comumente é diagnosticada entre 4 meses e 7 anos de idade, diferente do nosso paciente relatado, com o diagnóstico sendo realizado na adolescência<sup>33-34</sup>.

Três genes na região 15q21 são responsáveis pelas manifestações da síndrome. No primeiro tipo de SG, os indivíduos se apresentam com desordens de função cerebral (atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, convulsões e hipotonia) e alterações de coloração de pele e cabelos. Na SG tipo 2, ocorrem alterações de coloração de pele e cabelos, associada a anormalidades imunológicas e desenvolvimento de linfocitose hemofagocítica (HLH). Na SG do tipo 3 apenas alterações da coloração da pele e cabelo se manifestam. A RAB27A (mutada na SG tipo 2) é expressa em leucócitos, melanócitos e certos tecidos, e codifica uma Rab GTPase que é responsável pelo transporte vesicular em melanócitos (melanosomos) e nos linfócitos T citotóxicos e células NK (grânulos citolíticos). Os grânulos líticos contêm perforina e granzima, que induzem à apoptose das células infectadas, além de ativação de histiócitos e hipercitocinemia<sup>35-36</sup>.

O diagnóstico desta condição é importante visto que os indivíduos são predispostos à infecções de repetição e HLH, que pode ser fatal. O exame microscópico dos folículos pilosos é de utilidade na detecção de agrupamentos de melanina anormais, característicos da SG. O transplante de células tronco hematopoiéticas é o único tratamento desta condição. Nosso paciente relatado apresentava o fenótipo característico da SG, porém não teve histórico de infecções de repetição prévias, com o diagnóstico sendo realizado após recidivas de LV. A imunodeficiência na SG acometendo linfócitos, como já discutido previamente, é um dos fatores que podem ter predisposto o indivíduo a cursar com LV<sup>37</sup>.

Embora não tenha sido relatada LV em pacientes com uma das duas imunodeficiências descritas aqui previamente, em outras imunodeficiências primárias já são descritos relatos de LV como uma das infecções associadas.

Parvaneh et al. relataram 2 pacientes que apresentaram leishmaniose visceral e foram diagnosticados como portadores de imunodeficiências primárias. O primeiro paciente é do sexo masculino, iraniano, filho de pais consanguíneos, com história de adenite por BCG na infância, apresentou aos 14 anos úlcera cutânea por *Leishmania* no antebraço esquerdo, sendo tratado com antimoniato meglumina, com melhora. Todavia, após 9 meses, lesões papulonodulares difusas na pele e esclera se desenvolveram, com nova identificação de amastigotas de *Leishmania* nas lesões, com identificação por biologia molecular de *L. tropica*, além de hepatoesplenomegalia e febre. Foi tratado com anfotericina B e antimoniato meglumina, porém sem resposta clínica, sendo tratado em seguida com miltefosina por 28 dias, com melhora dos sintomas. O paciente apresentou várias recorrências da LV, em uma das quais foi identificada *L. infantum* em aspirado de medula óssea. Foi identificada deficiência de produção de IFN-gama e de produção da IL-12p40. Em sequenciamento do gene IL12RB1 evidenciou-se mutação, compatível com deficiência completa do IL-12Rb1.

O segundo paciente relatado é do sexo masculino, francês, também filho de pais consanguíneos, apresentava histórico de monilíase oral de repetição e quadro de sepse por *Salmonella enteritidis* aos 4 anos. Aos 10 anos, apresentou hepatoesplenomegalia, linfonomegalia, febre e pancitopenia, sendo verificado no aspirado de medula óssea múltiplas amastigotas de *Leishmania*. Recebeu tratamento com anfotericina B lipossomal, apresentando melhora clínica. Este paciente apresentava deficiência de produção de IFN-gama e ausência de produção de IL-12p40 após estimulação, sendo revelado em sequenciamento a presença de mutação no exon 2 do gene IL12B<sup>38</sup>. Em modelos animais, a deficiência de IL12p40 tem papel fundamental na imunidade a *Leishmania*<sup>39</sup>.

Sanal et al. relataram o caso de um paciente de 5 anos, com diagnóstico de deficiência de IL-12Rbeta1 diagnosticada aos 2 anos. Apresentava na admissão histórico de mal-estar, dor abdominal e distensão abdominal e ao exame físico linfonomegalia cervical e esplenomegalia. Apresentou imunofluorescência indireta para *Leishmania* positiva, além da detecção de amastigotas da mesma em espécime da medula óssea. Foi tratado com ABL por 21 dias na dose de 3

mg/kg/dia. Apresentou piora clínica 6 meses após o tratamento, com detecção de amastigostas novamente no aspirado de medula óssea, além de hemoculturas positivas para *Salmonella* do grupo D, recebeu novamente ABL por 15 dias. Foi tratado com IFN-gama 3 vezes/semana. Pacientes com infecção por *Leishmania* podem ter defeito no eixo IFN-gama/IL-12, neste caso ocorrendo por mutação em IL12-R $\beta$ 1<sup>40</sup>.

A doença granulomatosa crônica (DGC) é causada por mutações nas subunidades da NADPH-oxidase e pode ser de transmissão autossômica ou recessiva, sendo uma imunodeficiência primária em que a produção de espécies reativas de oxigênio pelos fagócitos é prejudicada, e os paciente apresentam suscetibilidade a infecções por microorganismos intracelulares, havendo relatos de leishmaniose visceral em pacientes com a mesma. Andrea et al. relataram 3 casos de LV associada a essa imunodeficiência:

O primeiro caso, sexo masculino, 18 anos, diagnosticado com DGC aos 5 anos, com antecedentes de abscesso hepático por *S. aureus*, perirretais e múltiplos episódios de linfadenites desde os 4 meses de idade. Apresentava história de febre, com presença de hepatoesplenomegalia, linfadenopatia e pancitopenia. Foram visualizados amastigotas no aspirado da medula óssea, além de hemofagocitose. Foi tratado com ABL e IFN-gama, porém evoluiu a óbito após 25 dias da admissão.

O segundo caso, sexo masculino, 15 anos, diagnosticado com DGC aos 6 meses, com antecedentes de múltiplos abscessos de couro cabeludo e linfadenite por *S. aureus*, e bacteremia por *Salmonella enteritidis*. Apresentava hepatoesplenomegalia e pancitopenia, sendo visualizadas amastigotas na avaliação da medula óssea. Recebeu ABL e miltefosina foi acrescentada por 10 dias por persistência de amstigotas, com melhora clínica posterior.

O terceiro caso, sexo feminino, 9 anos, diagnosticada com DGC aos 7 anos, quando apresentou abscesso esplênico por *Pseudomonas aeruginosa*. Apresentava queixas de dor abdominal e ao exame físico apresentava esplenomegalia e petéquias em tronco, além de trombocitopenia. Apresentou sorologia positiva para *Leishmania* e o aspirado de medula óssea não evidenciou alterações, e em segunda coleta observaram hemofagocitose. Foi tratada com imunoglobulina G IV e ABL por 28 dias, com resolução dos sintomas<sup>41</sup>.

Também há relatos de LV em pacientes com deficiência de CD40L. Gonzales-Granado e colaboradores relataram o caso de uma criança de 4 anos, do sexo

masculino com pneumonias de repetição desde os 5 meses no qual o sequenciamento genético evidenciava mutação em CD40LG, responsável pela síndrome Hiper-IgM ligada ao X. Apresentava febre, esplenomegalia e pancitopenia, com presença de amastigotas na visualização da medula óssea. Recebeu ABL por 2 semanas, na dose de 4mg/kg/dia. A síndrome Hiper-IgM ligada ao X é decorrente da mutação do gene CD40L. A ligação com CD40 induz a produção de IL12, através do fator nuclear kappa B. Em ratos com mutação com deficiência de CD40, não houve formação de resposta Th1 efetiva através de IL-12. Uma característica importante desta síndrome é o defeito de células T, com aumento da incidência de infecções por *Pneumocystis*, *Toxoplasma gondii* e por micobactérias<sup>42-44</sup>.

Byun et al. relataram um caso de uma mulher turca de 19 anos diagnosticada com sarcoma de Kaposi aos 14 anos de idade e com LV aos 9 anos (apresentou esplenomegalia, pancitopenia, em biópsia de medula óssea com presença de amastigotas, e IgG reagente para *Leishmania*. Foi tratada com ABL, cursando com melhora clínica. Foi diagnosticada com deficiência de OX40. OX40 é um dos receptores de TNF expresso em células T ativadas. Ratos deficientes em OX40 apresentam maior carga de *Leishmania infantum* em fígado do que os sem a deficiência<sup>45</sup>.

Prestes-Carneiro et al. relataram 5 casos de crianças que fizeram tratamento de LV no sudeste do estado de São Paulo apresentando manifestações clínicas atípicas, dos quais 1 paciente apresentava agamaglobulinemia ligada ao X, uma deficiência primária. Tratava-se de uma criança de 8 meses, do sexo masculino, com febre, tosse e vômitos por 5 dias, além de esplenomegalia e mucosas descoradas no exame físico. Foi suspeitado por ser de área endêmica e foi tratado com ABL. Este paciente apresentava pan-hipogamaglobulinemia e através de imunofenotipagem e cultura de linfócitos foi diagnosticado com agamaglobulinemia ligada ao X. O paciente recebeu alta hospitalar após 20 dias, e seguiu com uso de imunoglobulina humana IgG a cada 28 dias. A mutação do gene tirosina quinase de Bruton é a responsável pela imunodeficiência e tem como características a suscetibilidade aumentada para infecções bacterianas, a redução ou ausência de células B<sup>46,47</sup>.

Esse estudo apresenta várias limitações: o não seguimento dos pacientes após a internação e o desconhecimento das suas evoluções; dados de prontuário com poucas informações sobre história patológica dos pacientes; não ser possível

análise estatística por se tratar de um relato de casos. Do nosso conhecimento, este é o primeiro relato de casos em que leishmaniose visceral é diagnosticada em um paciente com Síndrome de Griscelli e em deficiência de GATA2.

## **10. CONCLUSÃO**

A LV em pacientes com imunodeficiências primárias apresenta quadro clínico e evolução diferente daquela dos indivíduos imunocompetentes, e o diagnóstico de LV e suas recidivas em indivíduos sem imunodeficiência primária conhecida pode ser considerado um marcador, a fim de que se seja investigada a presença de imunodeficiências, mesmo em pacientes sem histórico de infecção de repetição. São necessários mais estudos para análise dos métodos de diagnóstico e tratamento ideal nessa população.

## 11.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Burza S, Croft SL, Boelart M. Leishmaniasis. *Lancet* . 2018; 392: 951-70.
2. WHO. Leishmaniasis. Geneva. Disponível em <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>. Acessado em 1/10/2019.
3. Antinori S, Cascio A, Parravicini C. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *Lancet Infect Dis*. 2008; 8: 191-99.
4. Zijlstra EE, Musa AM, Khalil EA et. al. PKDL and other dermal lesions in HIV co-infected patients with leishmaniasis: review of clinical presentation in relation to immune responses. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 9: 3258.
5. Sundar S, Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2005; 728: 11-4.
6. Griensven JV, Diro E. Visceral Leishmaniasis Recent Advances in Diagnostic and Treatment Regimens. *Infect Dis Clin Am*. 2019; 33: 79-99.
7. Pagliano P et al. Visceral leishmaniasis in immunocompromised: diagnostic and therapeutic approach and evaluation of the recently released IDSA guidelines. *Le Inf in Med*. 2016; 4: 265-71.
8. Van Griensven J, Balasegaram M, Meheus F et al. Combination therapy for visceral leishmaniasis. *Lancet Infect Dis*. 2010; 10: 184-94.
9. Sundar S, Chakravarty J, Agarwal D, et al. Single-dose liposomal amphotericin B for visceral leishmaniasis in India. *N Engl J Med*. 2010; 362: 504-12.
10. Harhay MO, Olliaro PL, Vaillant M, et al. Who is a typical patient with visceral leishmaniasis? Characterizing the demographic and nutritional profile of

- patients in Brazil, East Africa, and South Asia. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84: 543–50.
11. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21: 334-359.
  12. Zacarias DA, Rolao N, de Pinho FA, Sene I, Silva JC, Pereira TC, et al. Causes and consequences of higher *Leishmania infantum* burden in patients with kala-azar: a study of 625 patients. *Trop Med Int Health.* 2017; 22(6): 679–87.
  13. Lafuse WP et al. *Leishmania donovani* Infection Induces Anemia in Hamsters by Differentially Altering Erythropoiesis in Bone Marrow and Spleen. *Plos One.* 2013; 8(3).
  14. Hsu AP, McReynolds LJ , Holland SM. GATA2 Deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2015; 15(1): 104–9.
  15. Griscelli C et al. A syndrome associating partial albinism and immunodeficiency. *N Engl J Med.* 1978; 65(4): 691-702.
  16. Shah BJ et al. Griscelli syndrome type-3. *Indian Dermatol Online J.* 2016; 7(6): 506-8.
  17. Khaden F, Uzonna JE. Immunity to visceral leishmaniasis: implications for immunotherapy . *Future Microbiol.* 2014; 9(7): 901–15.
  18. Liu D, Uzonna JE. The early interaction of *Leishmania* with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2012; 2:83

19. Elshafie AI, Hlin E, Hakansson LD *et al.* 55 Activity and turnover of eosinophil and neutrophil granulocytes are altered in visceral leishmaniasis. *Int. J. Parasitol.* 2011; 41; 463–9.
20. Gorak PM, Engwerda CR, Kaye PM. Dendritic cells, but not macrophages, produce IL-12 immediately following *Leishmania donovani* infection. *Eur. J. Immunol.* 1998; 28(2), 687–95.
21. Maurer M, Dondji B, Von Stebut E. What determines the success or failure of intracellular cutaneous parasites? Lessons learned from leishmaniasis. *Med. Microbiol. Immunol.* 2009; 198(3): 137–46.
22. Goto H, Prianti MG. Immunoactivation and immunopathogeny during active visceral leishmaniasis. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2009; 51(5): 241–6.
23. Silverman JM, Clos J, Horakova E *et al.* Leishmania exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocytes and dendritic cells. *J. Immunol.* 2010; 185(9): 5011–22.
24. McCuster C, Warrington R. Primary Immunodeficiency. *Allergy, Asthma & Clin Immunol.* 2011; 7: 11.
25. Notarangelo LD: Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125(2 Suppl 2): 182-94.

26. Salzer U, Sack U, Fuchs I. Flow cytometry in the diagnosis and follow up of human primary immunodeficiencies. *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2019: 407-420.
27. Bonilla FA, Bernstein IL, Khan DA, et al. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, American College of Allergy, Asthma and Immunology, Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology: Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005; 94(5 Suppl 1): 1-63.
28. Oliveira JB, Fleisher TA: Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125: 297-305.
29. Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol*. 2009, 124: 1161-78.
30. Kaur J, Catovsky D, Valdimarsson H, et al. (1972) Familial acute myeloid leukaemia with acquired Pelger-Huet anomaly and aneuploidy of C group. *British Medical Journal*. 1972; 4: 327–31.
31. Dickinson RE, Milne P, Jardine L, et al. (2014) The evolution of cellular deficiency in GATA2 mutation. *Blood*. 2014; 123: 863–874.
32. Collin M, Dickinson R, Bigley V. Haematopoietic and immune defects associated with GATA2 mutation. *British Journal of Haematology*. 2015; 169: 173–87.

33. Kharkar V, Pande S, Mahajan S, Dwiwedi R, Khopkar U. Griscelli syndrome: a new phenotype with circumscribed pigment loss? *Dermatol Online J.* 2007; 13(2): 17.
34. Griscelli C, Prunieras M. Pigment dilution and immunodeficiency: a new syndrome. *Int J Dermatol.* 1978; 17(10): 788-91
35. Durmaz A, Ozkinay F, Onay H, et al. Molecular analysis and clinical findings of Griscelli syndrome patients. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012; 34(7): 541-4.
36. Mansouri Nejad SE, Yazdan panah MJ, Tayyebi Meibodi N, et al. Griscelli Syndrome: A Case Report. *Iran J Child Neurol.* 2014; 8(4): 72-5.
37. Ariffin et al. Griscelli Syndrome. *Med J Malaysia* 2014; 69(4): 193-4.
38. Parvaneh N, et al. Visceral leishmaniasis in two patients with IL-12p40 and IL-12R $\beta$ 1 deficiencies. *Pediatr Blood Cancer.* 2017; 64: 1-5.
39. Mattner F, Magram J, Ferrante J, et al. Genetically resistant mice lacking interleukin-12 are susceptible to infection with *Leishmania major* and mount a polarized Th2 cell response. *Eur J Immunol.* 1996; 26(7): 1553–1559.
40. Sanal O, Turkkani G, Gumruk F, et al. A case of interleukin-12 receptor  $\beta$ -1 deficiency with recurrent leishmaniasis. *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26(4): 366–8.

41. Martin A, Marques L, Soler-Palacin P, et al. Visceral leishmaniasis associated hemophagocytic syndrome in patients with chronic granulomatous disease. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28(8): 753–4.
42. Gonzalez-Granado LI, Dominguez-Pinilla N, Gallego-Bustos F, Ruiz-Contreras J, Allende LM. Visceral Leishmaniasis may unmask X-linked hyper-IgM syndrome. *J Clin Immunol*. 2016; 36(4): 363–5.
43. Campbell KA, Owendale PJ, Kennedy MK, Fanslow WC, Reed SG, Maliszewski CR. CD40 ligand is required for protective cell-mediated immunity to *Leishmania major*. *Immunity*. 1996; 4(3): 283.
44. Sender LY, Gibbert K, Suezzer Y, Radeke HH, Kalinke U, Waibler Z. CD40 ligand-triggered human dendritic cells mount interleukin-23 responses that are further enhanced by danger signals. *Mol Immunol*. 2010; 47(6): 1255–61.
45. Byun M, Ma CS, Akcay A, et al. Inherited human OX40 deficiency underlying classic Kaposi sarcoma of childhood. *J Exp Med*. 2013; 210:1743–59
46. Prestes-Carneiro et al. Unusual manifestations of visceral leishmaniasis in children: a case series and its spatial dispersion in the western region of São Paulo state, Brazil. *BMC Infectious Diseases*. 2019; 19: 1-9.
47. Martin JC, Sancho T, Sierra FJ, et al. Visceral leishmaniasis in a patient with hyper-IgM hypogammaglobulinemia. *Clin Infect Dis*. 1996; 23(5): 1188–9.

## **12.ANEXOS**

### **12.1 TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS**

Para crianças e adolescentes (maiores que 6 anos e menores de 18 anos) e para legalmente incapaz.

Lembrando que o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido não elimina a necessidade de fazer o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), este último deve ser assinado pelo responsável ou representante legal do menor de 18 anos ou legalmente incapaz.

Você está sendo convidado a participar da pesquisa(estudo) Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência primária, coordenada por Daniel Gleison Carvalho (telefone 11-973146626) e Dr. José Angelo Lauletta Lindoso e Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos . Seus pais permitiram que você participe.

Queremos saber o comportamento da doença Leishmaniose Visceral em pacientes com imunodeficiências primárias, que são doenças das defesas do organismo.

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

A pesquisa será feita no/a Instituto de Infectologia Emílio Ribas.

É possível que algo de errado aconteça, como a quebra de confidencialidade . Todas as medidas necessárias para manter o segredo das informações sobre a sua saúde e que ninguém use informações de maneira errada serão tomadas. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelo telefone que tem no começo do texto. Mas há coisas boas que podem acontecer como maior conhecimento pelos

profissionais de saúde sobre a evolução da Leishmaniose Visceral em pacientes com doenças da imunidade.

Se você tiver alguma dúvida ou pergunta dos seus direitos na pesquisa, pode ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa CEP do Instituto de Infectologia Emílio Ribas no telefone (11) 3896-1406 ou mandar um e-mail: [comitedeetica@emilioribas.sp.gov.br](mailto:comitedeetica@emilioribas.sp.gov.br). CEP é um grupo de pessoas independentes que revisa as pesquisas (estudos) para proteger os direitos e o bem-estar dos participantes.

Ninguém fora da pesquisa saberá que você está participando; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der em nenhum momento, mesmo quando os resultados deste estudo possam ser visto por outras pessoas em qualquer forma.

Eu \_\_\_\_\_ (NOME LEGÍVEL) aceito participar da pesquisa ) Leishmaniose visceral como marcador de imunodeficiência primária

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

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

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram comigo e com os meus responsáveis. Recebi também uma via deste termo de assentimento assinado depois que li, responderam as perguntas feitas e concordo em participar da pesquisa.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Assinatura do menor

Data

\_\_\_\_\_  
\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Nome legível do Pesquisador que obteve o consentimento

Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador que obteve o consentimento

## **12.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RELATO DE CASO**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Instituto de Infectologia Emílio Ribas

Título do relato: Leishmaniose visceral como marcador diagnóstico de imunodeficiência primária

Nome do pesquisador: Daniel Gleison Carvalho (telefone 11-973146626) e Dr. José Angelo Lauletta Lindoso e Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos .

Nome da instituição: Instituto de Infectologia Emílio Ribas (IIER).

Prezado(a) senhor(a):

Você está sendo convidado a participar do estudo Leishmaniose visceral como marcador de diagnóstico de imunodeficiência primária. Durante sua participação neste estudo, gostaríamos de coletar informações sobre sua doença e resultados de seus exames. Seu nome e dados que possam lhe identificar não serão divulgados, mantendo-se o sigilo (segredo).

O objetivo é permitir um maior conhecimento sobre o diagnóstico, o comportamento da e o tratamento da sua doença com base em informações que já constam do seu prontuário, sem qualquer interferência ou mudança nos cuidados que você vem recebendo ou ainda receberá. Este tipo de pesquisa chama-se "Relato de Caso" e é muito útil para o ensino e o aprendizado na área da saúde.

Antes de concordar em participar deste estudo e autorizar o uso de seu prontuário, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. O(s) autor(es) deverá(ão) responder todas as suas

dúvidas antes de você se decidir a participar. Você tem o direito de desistir de participar do estudo a qualquer momento, sem nenhuma penalidade ou prejuízo em seu tratamento nesta Instituição. Da mesma forma, o(a) senhor(a) pode se recusar a participar sem nenhum prejuízo para o seu seguimento no Instituto. Se você concordar em participar deste estudo, pediremos que você assine este termo de consentimento. Uma via deste consentimento informado será arquivada com o(a) pesquisador(a) principal e outra via será fornecida a você.

**Procedimentos:** sua participação nesta pesquisa consistirá apenas na autorização da coleta de dados em seu prontuário, respeitado o anonimato (não informar o seu nome) e confidencialidade (segredo) das informações.

**Benefícios:** Este estudo trará maior conhecimento sobre o tema estudado, sem benefício direto para você.

**Riscos:** A quebra da confidencialidade desses dados é possível, se pessoas não envolvidas nesta pesquisa tiverem acesso aos prontuários. Os pesquisadores tomarão todas as medidas necessárias para manter a privacidade das informações sobre a sua saúde e prevenir o mau uso dessas informações. Os participantes do estudo não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados deste estudo forem divulgados em qualquer forma.

O que fazer caso tenha perguntas ou problemas?

Se o(a) senhor(a) tiver alguma pergunta sobre este estudo ou em caso de danos relacionados com a pesquisa, o senhor(a) deverá entrar em contato com os pesquisadores: Daniel Gleison Carvalho (telefone 11-973146626) e Dr. José Angelo Lauletta Lindoso e Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos .

Caso tenha alguma dúvida ou questão sobre seus direitos como participante deste estudo, o(a) senhor(a) poderá procurar o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Infectologia Emílio Ribas no número (11) 3896-1406 ou através do seguinte endereço: Av. Dr. Arnaldo, 165, São Paulo - SP. Horário de Atendimento: de segunda a sexta-feira de 08-13hs (e-mail: [comitedeetica@emilioribas.sp.gov.br](mailto:comitedeetica@emilioribas.sp.gov.br)). Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um grupo de membros independentes do

patrocinador/centro de pesquisa responsável por revisar os estudos de pesquisa com o objetivo de proteger os direitos e o bem-estar dos participantes.

O estudo foi explicado com palavras que eu consegui entender, discutir, fazer perguntas e estou satisfeito com as respostas. Ao assinar este TCLE em duas vias, ficando com uma delas, demonstro que aceitei o convite para participar do estudo Leishmaniose visceral como marcador de imunodeficiência primária

Data

\_\_\_\_\_

\_\_/\_\_/\_\_

Nome legível do participante da pesquisa ou responsável legal

\_\_\_\_\_

Assinatura do participante da pesquisa ou responsável legal

Data

\_\_\_\_\_

\_\_/\_\_/\_\_

Nome legível do Pesquisador que obteve o consentimento

\_\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador que obteve o consentimento

