

Frequência de autoanticorpos e dosagem de complemento sérico em pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea ou visceral

Alex Magno Coelho Horimoto¹, Prof. Izaias Pereira da Costa²

RESUMO

Introdução: A leishmaniose é uma doença infecciosa crônica que pode variar de um espectro que inclui o acometimento cutâneo isolado com manifestação oligossintomática até o acometimento sistêmico com manifestações clínicas importantes. O desenvolvimento de infecção em cada tipo de leishmaniose (visceral ou tegumentar) depende da interação complexa e intrigante entre os fatores de virulência do patógeno e a resposta imunológica do hospedeiro. Análises de soros de pacientes infectados por *Leishmania* demonstraram a existência de autoanticorpos contra componentes celulares e humorais, além de imunocomplexos circulantes e anticorpos contra a imunoglobulina G (fator reumatoide). Pacientes com leishmaniose visceral podem apresentar sintomas que mimetizam o quadro clínico encontrado em pacientes com diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), dificultando o diagnóstico precoce e tratamento. **Objetivos:** Identificar o perfil de autoanticorpos e a dosagem de complemento em pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral ou tegumentar e correlacionar o quadro clínico destes pacientes com o de pacientes com diagnóstico de LES. **Métodos:** Pesquisou-se a ocorrência de autoanticorpos e dosagem de complemento no soro de 90 pacientes, sendo 45 deles com leishmaniose visceral e 45 com a forma tegumentar. **Resultados:** Os autoanticorpos estatisticamente significativos presentes nos pacientes com leishmaniose visceral foram: Fator Antinuclear (FAN) positivo (4,4%) ou em baixa titulação (8,9%) e anticorpo anticardiolipina do tipo IgG positivo (17,8%) ou indeterminado (8,9%). Encontrou-se, ainda, diminuição do complemento sérico C3 em 17,8% dos pacientes e anticorpo anti-*Leishmania* positivo > 1/80 em todos os pacientes com leishmaniose visceral. **Conclusões:** A forma visceral da leishmaniose pode correlacionar-se positivamente com a presença de autoanticorpos, possivelmente pelo desencadeamento de uma resposta sistêmica predominantemente humoral do tipo Th2, constituindo-se em diagnóstico diferencial obrigatório com LES, principalmente nas áreas endêmicas.

Palavras-chave: autoanticorpos, dosagem de complemento, leishmaniose visceral, leishmaniose tegumentar, lúpus eritematoso sistêmico.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma das doenças infecciosas mais importantes no mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Cerca de 12 milhões de pessoas estão infectadas em 88 países (sendo a maioria em países em desenvolvimento), com 2 milhões de novas infecções anuais e 60 mil mortes por ano.^{1,2,3}

A leishmaniose é uma doença infecciosa crônica que pode variar de um espectro que inclui o acometimento cutâneo isolado com manifestação oligossintomática até o acometimento

sistêmico com manifestações clínicas importantes. O desenvolvimento de infecção em cada forma clínica de leishmaniose (visceral ou tegumentar) depende da interação complexa e intrigante entre os fatores de virulência do patógeno e a resposta imunológica do hospedeiro.¹

Os agentes causais das leishmanioses humanas são protozoários classificados na ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae* e gênero *Leishmania*, e são identificadas quatro formas clínicas diferentes de leishmaniose de acordo com a espécie infectante e a resposta imunológica do hospedeiro:

Recebido em 24/07/2008. Aprovado, após revisão, em 26/01/2009. Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

1. Médico-reumatologista Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Chefe do Serviço de Reumatologia do Hospital Regional de Mato Grosso do Sul. Preceptor Voluntário do Programa de Residência Médica em Reumatologia da UFMS

2. Mestre e Doutor em Reumatologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - (USP). Professor-associado Doutor do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMS. Chefe do Serviço de Reumatologia do Núcleo do Hospital Universitário da UFMS. Coordenador do Programa de Residência Médica em Reumatologia da UFMS

Endereço para correspondência: Dr. Alex Magno Coelho Horimoto. Rua Amazonas, 1494 ap. 802. CEP 79022-130 Vila Gomes. Fone (67) 9982-2665 e 3326-5100. Campo Grande - MS. E-mail: amchor@ibest.com.br

leishmaniose visceral, leishmaniose cutânea, leishmaniose cutânea difusa e leishmaniose cutâneomucosa.⁴

Os agentes etiológicos da leishmaniose visceral são protozoários tripanossomatídeos do gênero *Leishmania*. No país, a *Leishmania (Leishmania) chagasi* é a espécie comumente isolada em pacientes com leishmaniose visceral.³

Nas Américas, são atualmente reconhecidas 11 espécies dermatópicas de *Leishmania* causadoras de leishmaniose tegumentar humana e oito espécies descritas, somente em animais.⁴ No entanto, no Brasil, já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As três principais espécies são: *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* e, mais recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste.^{2,4,5}

Na forma visceral, o protozoário intracelular causa parasitismo intenso no sistema reticuloendotelial, comprometendo fígado, baço, medula óssea e linfonodos. Ocasionalmente altera a resposta celular e humoral, com deficiência de interferon gama (IFN- γ), aumento da produção de fator de necrose tumoral alfa (*Tumoral Necrosis Factor* - TNF- α) e outras interleucinas, além de hipergamaglobulinemia policlonal.⁶

O quadro clínico da leishmaniose visceral caracteriza-se por hepatoesplenomegalia, febre, palidez, adinamia, emagrecimento, taquicardia, tosse, epistaxe, gengivorragia, mialgia, artralgia e adenopatia entre outros, sintomas que podem, também, ser encontrados em pacientes com diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES).⁷

Os principais sinais e sintomas observados na leishmaniose tegumentar são: na forma cutânea: lesão ulcerada, indolor, com bordas elevadas em moldura, sendo fundo granuloso com ou sem exsudação. Pode ser única, múltipla, disseminada ou difusa. E na forma mucosa: obstrução nasal, eliminação de crostas, epistaxe, disfagia, odinofagia, rouquidão, dispneia e tosse, podendo apresentar lesões destrutivas, principalmente nas cavidades nasal e oral, faringe e laringe.⁴

O LES é uma doença inflamatória crônica de caráter autoimune, com causalidade multifatorial e apresentação clínica polimórfica. Apresenta disfunção imunológica, com ativação policlonal de linfócitos B e presença de autoanticorpos dirigidos contra antígenos nucleares, alguns dos quais participam de lesões teciduais imunologicamente mediadas. Devido ao seu quadro clínico polimórfico, pode ser confundida com diversas doenças infecciosas, incluindo leishmaniose visceral.⁸

Alguns autores descreveram casos de pacientes com leishmaniose que preenchiam critérios diagnósticos de LES estabelecidos pelo *American College of Rheumatology* (ACR), com manifestações clínicas e laboratoriais variadas que incluíam

citopenias, hipergamaglobulinemia policlonal, alterações de sedimento urinário (hematúria até proteinúria maciça), Fator antinuclear (FAN) positivo, artralgia e hepatomegalia. No entanto, apresentavam esplenomegalia, altos títulos de proteína C reativa (PCR), complemento normal, anti-DNA e outros autoanticorpos negativos, o que é infrequente nos pacientes com LES. No acompanhamento dos casos, concluiu-se, então, pelo diagnóstico de leishmaniose visceral com detecção da presença de parasitas em macrófagos da medula óssea e sorologia positiva para leishmaniose. Todas as manifestações clínicas e laboratoriais dos pacientes desapareceram após tratamento específico para Leishmaniose.^{9,10}

Infecções latentes na leishmaniose podem progredir para forma ativa da doença pela influência de alterações na resposta imunológica e, além disso, a imunossupressão causada pelo próprio LES ou seu tratamento pode transformar o calazar em uma doença rapidamente progressiva.¹¹

A primeira descrição de leishmaniose visceral complicando o quadro de LES ocorreu em uma mulher chinesa em 1983.¹² Desde então, encontram-se diversos relatos de leishmaniose visceral como causa de febre inexplicada e citopenia em pacientes com diagnóstico prévio de LES, o que contribui para a confusão e a dificuldade do diagnóstico diferencial entre as duas doenças.^{13,14,15}

Nos pacientes com LES, as infecções representam as causas mais comuns de morte e frequentemente é difícil distinguir entre uma infecção concomitante e atividade de LES, pois as apresentações clínicas podem ser similares.^{12,14,15}

Outro fator complicador na diferenciação entre as duas enfermidades é que ambas podem manifestar-se com alterações cutâneas. Vários trabalhos descrevem a existência de uma forma de leishmaniose cutânea, denominada lupoides, que se caracteriza pela disseminação do nódulo inicial para formação de placa e simula o lúpus discoide.^{16,17,18}

Os pacientes com leishmaniose visceral também podem apresentar manifestações renais secundárias à disfunção imunológica, idênticas às causadas pelo LES, incluindo queda da função renal, alterações do sedimento urinário e proteinúria.¹⁹ Em cães, observam-se desenvolvimento de glomerulonefrites do tipo mesangial e membranoproliferativa focal ou difusa, aumento da matriz mesangial e, à microscopia eletrônica, presença de depósitos de imunocomplexos contendo IgG e IgM, além de depósito de C3.²⁰

Várias possibilidades podem explicar o surgimento de autoanticorpos na leishmaniose visceral. Hipergamaglobulinemia é comum em pacientes com LES e está presente em todos os pacientes com calazar, decorrente da grande produção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA após a ativação policlonal

dos linfócitos B, o que gera formação de anticorpos específicos e inespecíficos, além de autoanticorpos que estão expressos em baixos níveis em condições normais.²¹

Mimetismo molecular entre antígenos da *Leishmania* e ribonucleoproteínas é outra hipótese levantada por Granel *et al.*,²² que encontraram produção de autoanticorpos tais como anti-Sm, anti-RNP, anti-SSA, anti-SSB e antifosfolípeos em pacientes infectados por *Leishmania*. Um terceiro mecanismo de indução de autoanticorpos na leishmaniose pode ser atribuído à liberação de antígenos sequestrados durante a agressão tecidual e o rompimento das células do hospedeiro, com exposição de antígenos previamente ocultos.²²

O objetivo deste estudo foi identificar o perfil de autoanticorpos e o consumo de complemento em pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea ou visceral. Correlacionar as formas de apresentação da doença (visceral ou tegumentar) com a presença de autoanticorpos e consumo de complemento.

PACIENTES E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de corte transversal.

Durante o período de março de 2006 a março de 2008, foram atendidos 203 pacientes com diagnóstico de leishmaniose (CID 10: B55) nos diversos ambulatórios de especialidades do Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e encaminhados para o Serviço de Doenças Infectoparasitárias do mesmo hospital, sendo um total de 138 homens e 65 mulheres. Deste total, foram selecionados 90 pacientes com diagnóstico de leishmaniose por meio de amostragem não probabilística por julgamento, sendo 45 com a forma visceral e 45 com a forma tegumentar, segundo os critérios expostos a seguir.

A seleção prévia dos pacientes foi feita a partir do levantamento dos prontuários médicos do Serviço de Doenças Infectoparasitárias do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, durante o período de março de 2006 a março de 2008.

Os pacientes para serem selecionados deveriam obedecer aos seguintes critérios: diagnóstico de leishmaniose visceral por meio das manifestações clínicas de febre, citopenia e visceromegalia, além de confirmação pelo diagnóstico sorológico por imunofluorescência indireta (IFI) com título maior ou igual a 1:80 e à microscopia, pela presença de formas da *Leishmania spp.* no exame de mielograma ou em cultura.

Diagnóstico de leishmaniose cutânea por meio das manifestações clínicas de lesões cutâneas ou mucosas sugestivas e comprometimento de linfonodos, além de diagnóstico laboratorial com base em exames parasitológicos (exame direto,

histopatológico ou cultura) e imunológicos (intradermorreação de Montenegro, imunofluorescência indireta ou ELISA).

Os critérios de exclusão foram: pacientes que apresentaram outras doenças infecciosas associadas, neoplasias e doenças autoimunes.

As informações necessárias para a identificação dos pacientes e clínica da doença foram obtidas a partir dos registros médicos contidos nos prontuários de cada paciente e complementadas, se houvesse necessidade, com entrevista do paciente.

Foi obtida a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP/UFMS) para utilização das informações dos prontuários, foi solicitada a concordância do paciente em participar da pesquisa após explanação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Amostras de soro

Foram utilizados para a realização da pesquisa soros dos pacientes previamente selecionados e que se encontravam adequadamente congelados e armazenados no Laboratório Central de Campo Grande – MS (LACEN) ou Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Os soros, no momento da realização dos exames, foram identificados, descongelados, divididos em alíquotas e submetidos à pesquisa de anticorpos antinucleares, fator reumatoide (FR), antifosfolípeos e complemento.

Pesquisa dos autoanticorpos

Foi utilizada a técnica de IFI para a pesquisa do FAN, tendo como substrato as células HEP-2 (técnica de FAAR) e utilizado os critérios do II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células HEP-2,²³ para a interpretação dos resultados.

As diluições de triagem foram de 1/40 a 1/160 na dependência da lâmpada do microscópio (20 w, 50 w, 100 w) e a leitura do título final foi feita na última diluição em que o padrão foi observável de forma definida.²³

Os soros que apresentaram titulação abaixo de 1/80 foram considerados negativos; aqueles com titulação de 1/80 a 1/160 foram considerados indeterminados; sendo positivos aqueles com título maior 1/160 e diluídos até obter-se a negatificação da fluorescência.

Anti-DNA nativo – Foi utilizado como substrato a *Crithidia luciliae* e utilizada técnica de IFI. Utilizando-se como contraprova o método de ensaio imunoenzimático e foram considerados positivos os valores referenciais maiores que 55 UI/mL, considerados indeterminados os valores entre 35 e 55 UI/mL e considerados negativos os valores menores que 35 UI/mL.

Para a pesquisa de anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro (SSA) e anti-La (SSB), foi utilizada técnica de ELISA, utilizando-se kits específicos de substrato para cada teste, seguindo-se as especificações do fabricante. (Hemagen Diagnostics, Inc). Foi considerado positivo o soro que apresentasse valor duas vezes acima do *cut-off*.

Anticardiolipina IgM e IgG – Foi utilizada a técnica de ensaio imunoenzimático, considerando-se positivo título maior que 30,0 UI/mL para IgG e maior que 15,0 UI/mL para IgM. Foi considerado indeterminado o resultado do teste se o título fosse entre 10 e 30,0 UI/mL para IgG e entre 10 e 15,0 UI/mL para IgM; e considerado negativo se a titulação fosse inferior a 10,0 UI/mL para ambos. O substrato utilizado foi a solução de cardiolipina purificada do Laboratório Sigma.

Fator Reumatoide – Foi utilizada a técnica de nefelometria e considerado positivo se o título fosse maior que 40 UI/mL e negativo se abaixo do mesmo valor.

Para pesquisa da fração de complemento C3 foi utilizada técnica de imunoturbidimetria e os valores referenciais foram os títulos entre 90,0 e 180,0 mg/dL; sendo considerados com diminuição da fração do complemento, os soros cujo título fosse menor que 90,0 mg/dL.

Para pesquisa da fração de complemento C4, foi utilizada a técnica de imunoturbidimetria e os valores referenciais foram os títulos entre 10,0 e 40,0 mg/dL; sendo considerados com diminuição da fração do complemento, os soros cujo título fosse menor que 10,0 mg/dL.

Análise Estatística

Foi utilizado o cálculo da média para os dados sociodemográficos.

Foi determinada a frequência dos autoanticorpos na sua totalidade e de cada um deles, na amostras dos soros dos pacientes da pesquisa e comparados com os dados da literatura.

A comparação entre os pacientes com leishmaniose visceral e aqueles portadores de leishmaniose tegumentar, com relação às variáveis idade, concentração de complemento C3 e C4, foi realizada por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

A avaliação da relação entre o tipo de leishmaniose e as variáveis sexo, procedência e resultados dos testes (anticorpo anti-*Leishmania*, anticorpo anti-Sm, anticorpo anti-RNP, anticorpo anti-SSA, anticorpo anti-SSB, anticorpo anticardiolipina, FR e complemento C3 e C4), foi realizada por meio do teste exato de Fisher. O mesmo teste foi utilizado para avaliar o tipo de leishmaniose e a coincidência entre o teste de fator antinuclear e os testes para anticorpo anticardiolipina IgM, anticorpo anticardiolipina IgG, FR, complemento C3 e complemento C4.

A avaliação da relação entre o tipo de Leishmaniose e as variáveis fator antinuclear, anticorpo anti-DNA e anticorpo anticardiolipina, foi realizada por meio do teste do qui-quadrado.

A comparação de percentuais de casos positivos, entre os pacientes dos dois tipos de leishmaniose avaliado neste estudo, para as variáveis anticorpo anti-*Leishmania* e complemento C3, foi realizada por meio do teste z. O mesmo teste foi utilizado para a comparação de percentuais, entre pacientes dos dois tipos de leishmaniose, para resultados coincidentes entre fator antinuclear e as variáveis anticardiolipina IgM, IgG, complemento C3 e complemento C4.

Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas e gráficos.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software* SigmaStat, versão 2.0, considerando diferenças e relações significativas quando o valor de P foi menor que 0,05.²⁴

RESULTADOS

Dados Sociodemográficos

Neste estudo, foram avaliados 90 pacientes sendo que destes 50,0% (n = 45) eram portadores de leishmaniose visceral e 50,0% (n = 45) eram portadores de leishmaniose tegumentar. A idade dos pacientes variou entre 12 e 76 anos, sendo a média de idade de 35,43 ± 16,79 anos (média ± desvio-padrão da média).

A idade dos pacientes com de leishmaniose visceral variou entre 12 e 76 anos, sendo a média de idade de 35,67 ± 19,55 anos. Já a idade dos pacientes com leishmaniose tegumentar variou entre 14 e 67 anos, sendo a média de idade de 35,20 ± 13,72 anos. Não houve diferença significativa entre os pacientes com leishmaniose visceral e aqueles com leishmaniose tegumentar, com relação à idade (teste de Mann-Whitney, P = 0,58).

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 48,9% (n = 22) eram do sexo feminino e 51,1% (n = 23) eram do sexo masculino. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, 51,1% (n = 23) eram do sexo feminino e 48,9% (n = 22) eram do sexo masculino. Não houve diferença significativa entre o tipo de leishmaniose e o sexo dos pacientes avaliados neste estudo (teste exato de Fisher, P = 1,00).

Procedência

Dos 45 pacientes com de leishmaniose visceral, 62,2% (n = 28) eram provenientes da microrregião de Campo Grande, sendo que os demais 37,8% (n = 17) eram das demais microrregiões de Mato Grosso do Sul. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar (n = 45), 68,9% (n = 31) eram provenientes

da microrregião de Campo Grande e 31,1% (n = 14) eram provenientes das demais microrregiões do estado. Não houve diferença significativa entre o tipo de leishmaniose e a procedência dos pacientes (teste exato de Fisher, P = 0,52).

Anticorpos Anti-*Leishmania*

Todos os pacientes que eram portadores de leishmaniose visceral, 100% (n = 45) apresentavam titulação de anticorpos anti-*Leishmania* positiva (> 1/80). Por outro lado, entre os portadores de leishmaniose tegumentar, 37,8% (n = 17) dos pacientes apresentavam titulação de anticorpos anti-*Leishmania* negativa (< 1/80) e 62,2% (n = 28) deles apresentavam titulação de soro anti-*Leishmania* positiva (> 1/80). Houve uma diferença significativa entre o tipo de leishmaniose e o resultado da titulação de anticorpos anti-*Leishmania* (teste exato de Fisher, P < 0,001), sendo a frequência de positividade maior no grupo visceral (teste z, P < 0,001).

FAN

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 86,7% (n = 39) apresentaram fator antinuclear (FAN) negativo, 8,9% (n = 04) com FAN indeterminado e 4,4% (n = 02) com FAN positivo. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, todos (100% - n = 45) apresentaram FAN negativo. Houve

uma relação estatisticamente significativa pelo teste do qui-quadrado (P = 0,04).

Anticorpo Anti-DNA Negativo

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 93,3% (n = 42) apresentaram anticorpo anti-DNA negativo, 2,2% (n = 1) com anticorpo anti-DNA indeterminado e 4,5% (n = 2) com anticorpo anti-DNA positivo. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, todos (100% - n = 45) apresentaram anticorpo anti-DNA negativo. Não houve uma relação significativa entre o tipo de leishmaniose e o resultado do anticorpo anti-DNA (teste do qui-quadrado, P = 0,21).

Anticorpo Anti-Sm

Todos os pacientes avaliados neste estudo (n = 90), independentemente do tipo de leishmaniose (visceral ou tegumentar) apresentaram anticorpo anti-Sm negativo (teste exato de Fisher, P = 1,00).

Anticorpo Anti-RNP

Com relação ao anticorpo anti-RNP, de todos os pacientes avaliados neste estudo, exceto um (1,1%), com leishmaniose visceral, apresentaram um valor indeterminado anticorpo anti-RNP (valor entre 5 e 9 UI/mL pelo teste imunoensaio enzimático), sendo que para os demais (98,9% - n = 89) o teste foi considerado negativo (teste exato de Fisher, P = 1,00).

Anticorpo Anti-Ro (SSA)

Todos os pacientes avaliados neste estudo (n = 90), independentemente do tipo de leishmaniose (visceral ou tegumentar) apresentaram anticorpo anti-SSA negativo (teste exato de Fisher, P = 1,00).

Anticorpo Anti-La (SSB)

Para o anticorpo anti-SSB, apenas um paciente (1,1%), com leishmaniose visceral, apresentou um valor positivo, sendo que para os demais (98,9% - n = 89) o teste foi considerado negativo (teste exato de Fisher, P = 1,00).

Anticorpo Anticardiolipina IgM e IgG

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 6,7% (n = 3) apresentaram anticorpo anticardiolipina do tipo IgM positivo. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, todos (n = 45) apresentaram anticardiolipina IgM negativo (teste exato de Fisher, P = 0,12).

Tabela 1

Procedência dos pacientes com leishmaniose visceral ou tegumentar, de acordo com a microrregião de Mato Grosso do Sul

Microrregião	Leishmaniose	
	Visceral	Tegumentar
Alto Taquari	00 (0,0%)*	00 (0,0%)
Aquidauana	05 (11,1%)	05 (11,1%)
Baixo Pantanal	00 (0,0%)	00 (0,0%)
Bodoquena	01 (2,2%)	00 (0,0%)
Campo Grande	28 (62,2%)	31 (68,9%)
Cassilândia	00 (0,0%)	00 (0,0%)
Dourados	04 (8,9%)	03 (6,7%)
Iguatemi	03 (6,7%)	02 (4,4%)
Nova Andradina	00 (0,0%)	00 (0,0%)
Paranaíba	00 (0,0%)	00 (0,0%)
Três Lagoas	04 (8,9%)	04 (8,9%)
Total	100% (n = 45)	100% (n = 45)

* Frequência absoluta (frequência relativa).

Dos 45 pacientes com leishmaniose visceral, 8,9% (n = 4) apresentaram anticorpo anticardiolipina do tipo IgG indeterminado e 17,8% (n = 8) apresentavam anticardiolipina IgG positivo. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, apenas um (2,2%) apresentou anticardiolipina IgG positivo. Houve uma relação significativa entre o tipo de leishmaniose e o resultado do anticorpo anticardiolipina do tipo IgG (teste de qui-quadrado, P = 0,004).

FATOR REUMATOIDE

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 24,4% (n = 11) apresentavam FR positivo. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, 8,9% (n = 4) apresentavam FR positivo (teste exato de Fisher, P = 0,09).

Dosagem de Complemento C3 e C4

Entre os pacientes com leishmaniose visceral (n = 45), 13,3% (n = 6) apresentaram concentração de complemento C3 menor que 90 mg/dL. No grupo dos pacientes com leishmaniose tegumentar, todos (100% - n = 45) apresentaram complemento C3 maior ou igual a 90 mg/dL. Houve uma relação significativa entre o tipo de leishmaniose e a concentração de complemento C3 (teste exato de Fisher, P = 0,01 e teste z, PP = 0,03).

Nenhum dos pacientes avaliados neste estudo, independente do tipo de leishmaniose, apresentou concentração de complemento C4 menor do que 10 mg/dL. Os dados referentes à frequência relativa e absoluta de pacientes com leishmaniose visceral e tegumentar, de acordo com as variáveis avaliadas neste estudo, são apresentados na Tabela 2.

DISCUSSÃO

Neste estudo, procurou-se minimizar a ocorrência de viés de seleção por meio da avaliação de uma amostragem média (90 pacientes) e de uma população estatisticamente semelhante, sendo que metade apresentava leishmaniose visceral e a outra metade leishmaniose tegumentar. Desse modo, foi possível observar a produção de autoanticorpos e complemento em cada uma das formas da doença, sem outros fatores de interferência.

Não houve diferença significativa entre os pacientes com leishmaniose visceral e aqueles com leishmaniose tegumentar com relação à idade ou ao sexo neste trabalho, sendo que a média de idade encontrada foi de 35,43 anos e aproximadamente metade dos pacientes de cada sexo. Fernandes²⁵, em 1990, observou incidência de 53 casos de leishmaniose

Tabela 2

Variáveis demográficas e laboratoriais analisadas nos pacientes com leishmaniose visceral (n = 45) ou tegumentar (n = 45)

Variável	Leishmaniose		P
	Visceral	Tegumentar	
Sexo			
Feminino	22 (48,9%)*	23 (51,1%)	1,00 ¹ NS
Masculino	23 (51,1%)	22 (48,9%)	
Microrregião			
Campo Grande	28 (62,2%)	31 (68,9%)	0,52 ¹ NS
Outra	17 (37,8%)	14 (31,1%)	
Anticorpo anti-Leishmania			
Negativo	00 (0,0%)	17 (37,8%)	<0,001 ¹ Sig.
Positivo	45 (100%)	28 (62,2%)	
Fator antinuclear (FAN)			
Negativo	39 (86,7%)	45 (100%)	0,04 ² Sig.
Indeterminado	04 (8,9%)	00 (0,0%)	
Positivo	02 (4,4%)	00 (0,0%)	
Fator reumatoide			
Negativo	34 (75,6%)	41 (91,1%)	0,09 ¹ NS
Positivo	11 (24,4%)	04 (8,9%)	
Concentração de complemento C3			
□ 90 mg/dL	39 (86,7%)	45 (100%)	0,01 ¹ Sig.
< 90 mg/dL	06 (13,3%)	00 (0,0%)	
Concentração de complemento C4			
□ 10 mg/dL	45 (100%)	45 (100%)	1,00 ¹ NS
< 10 mg/dL	00 (0,0%)	00 (0,0%)	

* Frequência absoluta (frequência relativa); NS = relação não significativa; Sig. = relação significativa; ¹valor de P no teste exato de Fisher; ²valor de P no teste do qui-quadrado.

cutaneomucosa na região de Nioaque (MS) durante o período de agosto de 1987 a julho de 1988, sendo que, destes, ocorreu predomínio na população jovem, menor de 20 anos de idade (37,7%) e o mesmo autor também não encontrou predomínio com relação ao sexo dos indivíduos afetados.

Nunes *et al.*,²⁶ em estudo epidemiológico sobre leishmaniose tegumentar na região de Corguinho (MS), encontraram a faixa etária mais atingida pela parasitose entre 22 e 78 anos, com predomínio de homens (75% dos casos).

Com relação ao sexo, a literatura destaca o masculino como o mais suscetível à leishmaniose visceral e tegumentar, possivelmente pelos hábitos recreativos e ocupacionais deste grupo,

Tabela 3

Frequências de anti-DNAs, anti-Sm, anti-RNP, anti-SSA, anti-SSB e anticardiolipina (IgM e IgG) nos pacientes com leishmaniose visceral (n = 45) ou tegumentar (n = 45)

Variável	Leishmaniose		P
	Visceral	Tegumentar	
Fator anti-DNA			
Negativo	42 (93,3%)	45 (100%)	
Indeterminado	01 (2,2%)	00 (0,0%)	0,21 ² NS
Positivo	02 (4,4%)	00 (0,0%)	
Anticorpo anti-Sm			
Negativo	45 (100%)	45 (100%)	
Positivo	00 (0,0%)	00 (0,0%)	1,00 ¹ NS
Anticorpo anti-RNP			
Negativo	44 (97,8%)	45 (100%)	
Positivo	01 (2,2%)	00 (0,0%)	1,00 ¹ NS
Anticorpo anti-SSA			
Negativo	45 (100%)	45 (100%)	
Positivo	00 (0,0%)	00 (0,0%)	1,00 ¹ NS
Anticorpo anti-SSB			
Negativo	44 (97,8%)	45 (100%)	
Positivo	01 (2,2%)	00 (0,0%)	1,00 ¹ NS
Anticorpo anticardiolipina IgM			
Negativo	42 (93,3%)	45 (100%)	
Positivo	03 (6,7%)	00 (0,0%)	0,12 ¹ NS
Anticorpo anticardiolipina IgG			
Negativo	33 (73,3%)	44 (97,8%)	
Indeterminado	04 (8,9%)	00 (0,0%)	0,004 ² Sig.
Positivo	08 (17,8%)	01 (2,2%)	

*Frequência absoluta (frequência relativa); NS = relação não significativa; Sig. = relação significativa; ¹valor de P no teste exato de Fisher; ²valor de P no teste do qui-quadrado.

cujos indivíduos têm maior tendência de adentrar nas matas silvestres e se expor ao habitat natural dos flebotomíneos.^{27,28}

Por outro lado, tem-se observado recentemente mudança no padrão de ocorrência da leishmaniose no estado e no país, com expansão e importante urbanização da doença, o que pode contribuir para exposição equivalente de ambos os sexos à doença.²⁹

As microrregiões do Estado de onde originaram os pacientes do estudo estão em consonância com os dados da Secretaria de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul, que apontaram a ocorrência de leishmaniose visceral principalmente nos muni-

cípios de Campo Grande, Três Lagoas e Aquidauana durante o período de 2003 a 2007.³⁰

No presente estudo, todos os pacientes que tinham leishmaniose visceral apresentavam titulação de anticorpo anti-*Leishmania* positiva (> 1/80). Com relação aos com leishmaniose tegumentar, 37,8% dos pacientes apresentavam anticorpos anti-*Leishmania* negativos e 62,2% deles apresentavam positividade dos anticorpos. Schubach *et al.*³¹ encontraram anticorpos anti-*Leishmania* em 52,5% dos pacientes com doença cutânea ativa. Já Silveira *et al.*²⁷ encontraram esse anticorpo em 64,4% de 955 pacientes com leishmaniose cutânea. Atta *et al.*,³² estudando pacientes com leishmaniose visceral, também encontraram anticorpos anti-*Leishmania* em 100% dos casos; no entanto, esse estudo apresentou amostragem de apenas nove pacientes. Pappas *et al.*,³³ em amostra de 42 pacientes, encontraram sorologia positiva em 98% dos pacientes com leishmaniose visceral. Na literatura, o encontro de sorologia positiva anti-*Leishmania* predominante nos casos da forma visceral pode ser explicado pela evidência do padrão de resposta Th2 da doença, com ativação policlonal de linfócitos B e produção de anticorpos específicos anti-*Leishmania* e anticorpos com outras especificidades.^{32,34}

Entre os pacientes com leishmaniose visceral encontrou-se FAN indeterminado em 8,9% dos casos, e positivo em 4,4% dos pacientes (com titulação maior que 1/160). Não se observou na literatura outro trabalho comparando a presença de FAN em pacientes com leishmaniose visceral ou cutânea. Deve-se considerar que 5% da população normal e até 13% da população acima de 50 anos pode ter o teste positivo em título baixo.²³ Várias possibilidades podem explicar o surgimento de autoanticorpos na leishmaniose visceral. O mais aceito é que a hipergamaglobulinemia que está presente em praticamente todos os pacientes com leishmaniose visceral, decorrente da grande produção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA seja por ativação policlonal dos linfócitos B, ocasionando a formação de anticorpos específicos e autoanticorpos que estão expressos em baixos níveis em condições normais.²¹ Existem evidências que antígenos solúveis derivados do parasita de *Leishmania major* e *L. donovani* são mitogênicos e desencadeiam a produção de imunoglobulinas com atividade de autoanticorpos.²¹

Encontrou-se no estudo a presença de anticorpo anti-DNA nativo indeterminado em 2,2% dos casos e positivo em 4,4% dos pacientes com leishmaniose visceral. Não houve uma relação significativa entre o tipo de leishmaniose e o resultado do anticorpo anti-DNA. No entanto, esse resultado, mesmo que não significativo do ponto de vista estatístico, é muito relevante do ponto de vista diagnóstico, pois é amplamente difundido

que o anticorpo anti-DNA é quase exclusivo de pacientes com diagnóstico de LES e muito raro em pessoas saudáveis.³⁵ Do ponto de vista patogênico, o aparecimento de anti-DNA se correlaciona com determinadas apresentações clínicas e também sugerem o diagnóstico de LES.³⁵ O resultado pode ser explicado pela reatividade cruzada dos anticorpos anti-DNA, que pode ocorrer quando se realiza a detecção do anticorpo pela técnica de IFI com *Crithidia luciliae*. Observa-se teste positivo em pacientes com leishmaniose, com formação de imagens atípicas e fluorescência em outras estruturas do parasita.³⁶

Granel *et al.*²² relataram caso de um paciente com leishmaniose visceral que apresentava anticorpos anti-DNA, que desapareceu após tratamento com esteroides, antimoniais e posterior uso de anfotericina B lipossomal. Argov *et al.*²¹ estudando 23 pacientes com leishmaniose visceral e 14 pacientes com leishmaniose cutânea, não encontraram presença de anti-DNA, apesar da produção de outros autoanticorpos nestes pacientes.

Todos os pacientes avaliados neste estudo, independentemente do tipo de leishmaniose (visceral ou tegumentar) apresentavam anticorpo anti-Sm negativo. Surpreendentemente, Argov *et al.*²¹ encontraram anti-Sm em 7% dos pacientes com leishmaniose cutânea e 83% dos pacientes com leishmaniose visceral. Os soros dos pacientes eram provenientes da América do Sul (predominantemente Brasil), África e Ásia (principalmente da Índia). Mimetismo molecular entre antígenos da *Leishmania spp.* e ribonucleoproteínas é uma outra hipótese levantada por Granel *et al.*,²² para explicar a ocorrência destes autoanticorpos (anti-Sm, anti-RNP, anti-SSA e anti-SSB) em pacientes infectados. A possibilidade que determinantes antigênicos sejam compartilhados entre Sm, RNP, SSB e a *Leishmania* é levantada pela inibição de autoanticorpos para estes antígenos nucleares por promastigotas intactas de *Leishmania*.²¹

Com relação ao anticorpo anti-RNP, entre os pacientes avaliados neste estudo, apenas um (1,1%), com leishmaniose visceral, apresentou um valor indeterminado, sendo que, para os demais, o teste foi considerado negativo. Argov *et al.*²¹ encontraram positividade de anti-RNP em 14% dos pacientes com leishmaniose cutânea e 86% dos pacientes com leishmaniose visceral.

Todos os pacientes avaliados neste estudo, independentemente do tipo de leishmaniose (visceral ou tegumentar) apresentavam anticorpo anti-SSA negativo. Para o anticorpo anti-SSB, apenas um paciente (1,1%), com leishmaniose visceral, apresentou valor positivo, sendo que, para os demais, o teste foi considerado negativo. Argov *et al.*²¹ encontraram positividade de anti-SSA e anti-SSB em 25% dos pacientes

com leishmaniose cutânea e, respectivamente em 36% e 73% dos pacientes com leishmaniose visceral.

Entre os pacientes com leishmaniose visceral 6,7% apresentavam anticorpo anticardiolipina do tipo IgM positivo. No mesmo grupo, encontrou-se, ainda, presença do anticorpo anticardiolipina do tipo IgG em 17,8% dos casos. Não foi encontrado na literatura nenhum estudo referente à pesquisa de anticorpos anticardiolipina para comparação. É relatada na literatura a presença de anticorpos anticardiolipina em outras doenças infecciosas.³⁷ Repka *et al.*³⁸ encontraram tais anticorpos em 8,34% dos pacientes com hanseníase paucibacilar, além de positividade em 80,77% dos pacientes multibacilares não tratados. A origem da presença dos anticorpos anticardiolipina em pacientes com infecção tem sido debatida e várias hipóteses foram aventadas, entre as quais: que se deva à ativação policlonal inespecífica das células B, que o agente infeccioso tenha a capacidade de se ligar aos fosfolípidos endógenos tornando-os imunogênicos, que o agente infeccioso produza lesão endotelial expondo epítopos de fosfolípidos que desencadearão a resposta imunológica, que o aparecimento do anticorpo anticardiolipina se deva à reação cruzada com anticorpos anti-DNA.³⁸

A importância do achado de anticorpos anticardiolipina em pacientes com leishmaniose se deve ao fato dos autoanticorpos estarem relacionados com mecanismos etiopatogênicos de trombose venosa e arterial.³⁷ Terrazzano *et al.*,³⁹ em 2006, estudaram 33 cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* e encontraram em 63,3% deles a presença de anticorpos antiplaquetas, sendo que a metade destes apresentava trombocitopenia e sinais clínicos de doença moderada a grave.

Entre os pacientes com leishmaniose visceral 24,4% apresentavam FR positivo e 8,9% dos pacientes com leishmaniose tegumentar apresentavam FR positivo. Estes autoanticorpos são mais frequentemente encontrados na artrite reumatoide (AR), mas podem ser observados em outras doenças autoimunes, bem como em algumas infecções, como, por exemplo, na leishmaniose. O FR de pacientes com AR difere do anticorpo IgM anti-IgG encontrado nas doenças infecciosas.⁴⁰

Chabanne *et al.*⁴¹ detectaram FR IgM e IgA por método de ELISA em altos títulos em cães com leishmaniose visceral, respectivamente 45% e 30%.

Atta *et al.*⁴⁰ encontraram altos níveis de FR IgM (100 UI/mL) em 90% dos pacientes estudados com leishmaniose visceral. Surpreendentemente, também foi encontrado anticorpo IgG anti-CCP (citrulina) em 30% dos mesmos pacientes. Acredita-se que estes anticorpos tenham alta especificidade diagnóstica para AR e atualmente são usados como bons marcadores preditivos de AR precoce. Esta produção de

anticorpos anti-CCP poderia ser causada pela citrulinização de proteínas do hospedeiro durante infecção por *Leishmania* e poderia representar um novo aspecto da imunopatogênese da leishmaniose visceral.⁴⁰

Relata-se na literatura a presença de altos níveis de imuno-complexos circulantes em pacientes com leishmaniose visceral e LES.^{42,43} Sinais de ativação da cascata do complemento foram observados em estudo de pacientes com leishmaniose visceral, em 43,4% dos casos havia queda simultânea das frações C3 e C4, além de alteração no teste CH100, sugerindo ativação da via clássica.¹⁹

Contrariamente ao trabalho citado, no estudo presente encontrou-se queda somente da fração C3 de complemento em pacientes com leishmaniose visceral, que sugere ativação da via alternativa.⁴⁴ Corroborando estes dados, Stebut⁴⁵ encontrou ativação do sistema-complemento em modelos experimentais de leishmaniose, principalmente pela opsonização da superfície do parasita com C3b.

Sabe-se que alguns patógenos intracelulares utilizam-se de moléculas regulatórias e receptores do complemento como um meio de entrar nas células, como a *Leishmania*, que desenvolve mecanismos para promover sua própria fagocitose, promovendo consumo de frações do complemento.⁴⁵ Outro mecanismo envolvido no consumo de complemento na leishmaniose pode

ser atribuído à liberação de antígenos sequestrados durante agressão tecidual e rompimento de células do hospedeiro, com exposição de antígenos previamente ocultos e ativação do complemento.²²

CONCLUSÃO

Os autoanticorpos estatisticamente significativos, presentes nos pacientes com leishmaniose visceral, foram: FAN positivo (4,4%) ou em baixa titulação (8,9%) e anticorpo anticardiolipina do tipo IgG positivo (17,8%) ou indeterminado (8,9%). Encontrou-se, além disso, diminuição do complemento sérico C3 em 17,8% dos pacientes e anticorpos anti-*Leishmania* > 1/80 positivos em todos os pacientes com leishmaniose visceral.

Na leishmaniose tegumentar, não se encontraram alterações significativas com relação à frequência de autoanticorpos ou dosagem de complemento.

Recomendamos que a possibilidade da leishmaniose visceral em pacientes com suspeita diagnóstica de LES seja investigada, principalmente nas áreas endêmicas, em virtude da similaridade clínica e laboratorial entre as duas doenças, inclusive com aparecimento de autoanticorpos como anti-DNA e anticardiolipina.

REFERÊNCIAS

REFERENCES

1. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev. Bras. Epidemiol. 2004; 7(3):1-13.
2. 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 pp. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 120 pp.: ilust. color – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
4. Rey L. *Leishmania* e Leishmanioses: os parasitos. O complexo “*Leishmania braziliensis*” e a Leishmaniose Tegumentar Americana. O complexo “*Leishmania mexicana*” e as Leishmanioses Cutâneas das Américas. Leishmanias e Leishmanioses Cutâneas do Velho Mundo. O complexo “*Leishmania donovani*” e a Leishmaniose Visceral. In: Rey L. Parasitologia. 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. pp.182-226.
5. Moraes MAP, Silveira FT. Histopatologia da forma localizada de leishmaniose cutânea por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Rev. Inst. Med. Trop. 1994; 36(5):459-63.
6. Gama MEA, Costa JML, Pereira JCR, Gomes CMC, Corbett CEP. Serum cytokine profile in the subclinical form of visceral leishmaniasis. Braz. J. Med. Biol. Res. 2004; 37:129-36.
7. Belic A, Pejin D, Stefanovic N, Spasojevic J, Durkovic D. Hematologic characteristics of leishmaniasis. Med. Pregl. 2000; 53(1-2):89-91.
8. Sato EI. Lúpus Eritematoso Sistêmico. In: Prado F C. Atualização Terapêutica 2001. São Paulo: Artes Médicas; 2001; pp. 1382-7.
9. Voulgarelis M, Volgari PV, Serelis J, Drosos AA, Skopouli FN. Visceral Leishmaniasis resembling Systemic Lupus Erythematosus. Clin. Rheumatol. 2003; 22(6):452-5.

10. Voulgari PV, Pappas GA, Liberopoulos EN, Elisaf M, Skopouli FN, Drosos AA. Visceral Leishmaniasis resembling Systemic Lupus Erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2004; 63(10): 1348-9.
11. Fernández-Guerrero ML, Aguado JM, Buzón L *et al.* Visceral Leishmaniasis in immunocompromised hosts. *Am. J. Med.* 1987; 83(6):1098-102.
12. Wallis PJ, Clark CJ. Visceral Leishmaniasis complicating Systemic Lupus Erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 1983; 42(2):201-2.
13. López-Soto A, López R. Síndrome febril, esplenomegalia y pancitopenia em un varón de 23 años com Lupus Eritematoso Sistêmico. *Méd. Clin. (Barc.)* 1992; 98(13):510-5.
14. Ravelli A, Viola S, DE Benedetti F, Magni Manzoni S, Martini A. Visceral Leishmaniasis as a cause of unexplained fever and cytopenia in Systemic Lupus Erythematosus. *Acta Paediatr.* 2002; 91(2):246-7.
15. Braun J, Sieper J, Schulte KL, Thiel E, Janitschke K. Visceral Leishmaniasis mimicking a flare of Systemic Lupus Erythematosus. *Clin. Rheumatol.* 1991; 10(4):445-8.
16. Paksoy N, Hekim E. Comparative analysis of the clinico pathological features in cutaneous Leishmaniasis and Lupus vulgaris in Turkey. *Trop. Med. Parasitol.* 1993; 44(1):37-9.
17. Ysmaïl-Dahlouk M, Amar Khodja A, Ysmaïl-Dahlouk S, Ait Belkacem F. Leishmaniose Lupoide. *Ann. Dermatol. Venereol.* 1994; 121(2):103-6.
18. Landau M, Srebrnik A, Brenner S. Leishmaniasis recidivans mimicking *Lupus vulgaris*. *Int. J. Dermatol.* 1996; 35(8):572-3.
19. Verde EML, Verde FAL, Verde FAAL. Nefropatia do calazar. *In: Riella MC. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003; pp. 102-9.
20. Zatelli A, Borgarelli M, Santilli R *et al.* Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. *Amer. J. Vet. Res.* 2003; 64(5):558-61.
21. Argov S, Jaffé CL, Krupp M, Slor H, Shoenfeld Y. Autoantibody production by patients infected with *Leishmania*. *Clin. Exp. Immunol.* 1989; 76(2):190-7.
22. Granel B, Serratrice J, Swiader L *et al.* Crossing of antinuclear antibodies and anti-*Leishmania* antibodies. *Lupus.* 2000; 9(7):548-50.
23. Dellavance A, Gabriel A Jr, Cintra AFU *et al.* II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células Hep-2. *Rev. Bras. Reumatol.* 2003; 43(3):129-40.
24. Shott, S. *Statistics for health professionals.* London: W. B. Saunders Company; 1990.
25. Fernandes LC. Leishmaniose cutâneo-mucosa em Nioaque – MS. Aspectos clínicos e epidemiológicos. *F Med (BR)* 1990; 101(2):93-5.
26. Nunes VLB, Dorval MEC, Oshiro ET *et al.* Estudo epidemiológico sobre leishmaniose tegumentar (LT) no município de Corguinho, Mato Grosso do Sul – Estudos na população humana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1995; 28(3):185-93.
27. Silveira TGV, Teodoro U, Lanardoni MVC *et al.* Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar em área endêmica do Estado do Paraná, Brasil. *Cad. Sal. Publ.* 1996; 12(2):141-7.
28. Silveira TGV, Arraes SMAA, Bertolini DA *et al.* Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar no Estado do Paraná, sul do Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1999; 32(4): 413-23.
29. Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana: banco de dados preparado por Rosely C. Oliveira. *In: Ministério da Saúde. Base de dados online [citado mai 01 2006]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=962.*
30. Número de casos de Leishmaniose Visceral no período de 2001 a 2006. *In: Secretaria de Estado de Saúde do Governo de Mato Grosso do Sul. Base de dados online [citado ago 02 2008]. Disponível em: http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=list&voltar=home&id_comp=634.*
31. Schubach A, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV *et al.* Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of american tegumentary leishmaniasis patients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2001; 96(7):987-96.
32. Atta AM, Colossi R, Souza-Atta MLB *et al.* Antileishmanial IgG and IgE antibodies recognize predominantly carbohydrate epitopes of glycosylated antigens in visceral leishmaniasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2004; 99(5):525-30.
33. Ferreira MP, Roselino AMF, Nascimento MMP, Aires JM, Figueiredo JFC. Sensitivity of an immunoenzymatic test for the detection of anti-*L. braziliensis* antibodies compared to other tests used for the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. *Rev. Inst. Med. Trop São Paulo* 2006; 48(4):215-7.
34. Souza MA, Silva AG, Afonso-Cardoso SR, Favoreto S Jr, Ferreira MS. Perfil de isotipos de imunoglobulinas e subclasses de IgG na leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 2005; 38(2):137-41.
35. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV *et al.* Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *New Engl. J. Med* 2003; 349(16):1526-33.
36. Griemberg G, Ferrarotti NF, Avibel G *et al.* Inmunofluorescencia com *Crithidia luciliae* para la deteccion de anticuerpos anti-AND. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66:3-8.
37. Freitas MVC, Silva LM, Petean FC *et al.* Síndrome do anticorpo antifosfolípideo: estudo comparativo das formas primária e secundária. *Rev. Bras. Reumatol* 2003; 43(3):153-9.
38. Repka JCD, Skare TL, Salles G Jr, Paul GM. Anticorpo anticardiolipina em pacientes com mal de Hansen. *Rev. Bras. Reumatol* 2001; 41(1):1-6.
39. Terrazzano G, Cortese L, Piantadosi D *et al.* Presence of anti-platelet IgM and IgG antibodies in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006; 110(3-4):331-7.
40. Atta AM, Carvalho EM, Jeronimo SMB, Sousa-Atta MLB. Serum markers of rheumatoid arthritis in visceral leishmaniasis: rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody. *J Autoimmun* 2007; 28:55-8.
41. Chabanne L, Fournel C, Faure JR *et al.* IgM and IgA rheumatoid factors in canine polyarthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol* 1993; 39(4):365-79.
42. Soares NM, Santiago MB, Pontes Carvalho LC. An improved anti-C3/IgG ELISA for quantification of soluble immune complexes. *J. Immunol. Methods* 2001; 249(1-2):199-205.
43. Elshafie AI, Ahlin E, Mathsson L, Elghazali G, Ronnelid J. Circulating immune complexes (IC) and IC-induced levels of GM-CSF are increased in Sudanese patients with acute visceral *Leishmania donovani* infection undergoing sodium stibogluconate treatment: implications for disease pathogenesis. *J. Immunol* 2007; 178:5383-9.
44. Utiyama SRR, Reason ITM, Kotze LMS. O Sistema Complemento nas Doenças: Genética e Patogenia. *Rev. Bras. Reumatol* 2004; 44(4):277-86.
45. Von Stebut E. Immunology of cutaneous leishmaniasis: the role of mast cells, phagocytes and dendritic cells for protective immunity. *Eur. J. Dermatol* 2007; 17(2):115-22.