



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**HISTOPLASMOSE DISSEMINADA EM USUÁRIOS DE IMUNOBOLÓGICOS:  
RASTREAMENTO EM PACIENTES TRATADOS COM INIBIDORES DO TNF- $\alpha$**

MURILLO MACHADO CIPOLAT

Porto Alegre

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**HISTOPLASMOSE DISSEMINADA EM USUÁRIOS DE IMUNOBIOLOGICOS:  
RASTREAMENTO EM PACIENTES TRATADOS COM INIBIDORES DO TNF- $\alpha$**

MURILLO MACHADO CIPOLAT

Orientador: Prof. Dr. Diego Rodrigues Falci  
Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção de Mestre em Medicina: Ciências  
Médicas, da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em  
Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2023

*“Procurar o que é verdadeiro não é procurar o que se deseja.”*

*Albert Camus*

## **Agradecimentos**

Nesse momento, gostaria de agradecer primeiramente à minha esposa, Paula, que esteve ao meu lado desde o início desta etapa da minha carreira, sempre me apoiando e me incentivando. Agradeço a compreensão por todas as ocasiões em que precisamos adiar momentos de lazer para que eu pudesse dedicar o tempo livre em finais de semanas e feriados ao projeto. Espero poder retribuir esse apoio nas suas conquistas.

Este agradecimento é estendido às nossas famílias pelo mesmo motivo - muitas vezes necessitamos não estar presentes nos encontros devido aos nossos compromissos acadêmicos ou profissionais. Mesmo assim, sempre senti a compreensão e o suporte por parte da família. Agradeço especialmente aos meus pais, que sempre incentivaram o hábito da leitura e estudo em nossa família. Desse modo foi na escola, na faculdade e na residência médica, e seguiu verdadeiro nesta pós-graduação.

Sou grato ao apoio de meus colegas de trabalho, às equipes dos SAEs de Novo Hamburgo e Charqueadas, que compreendiam quando eu precisava solicitar trocas ou ajustes na agenda para que pudesse atender às disciplinas ou reuniões acadêmicas.

Também aos profissionais que participaram da execução do meu projeto de mestrado, possibilitando sua transformação em um estudo: à Letícia, que nos ajudou a sistematizar a abordagem de pacientes; à Débora, que fez a maior parte da coleta e das entrevistas de pacientes; ao Dr Claiton Brenol, Dra Inês Guimarães e demais membros das equipes de Gastreenterologia e Reumatologia do HCPA e Hospital São Lucas da PUCRS que contribuíram à execução do projeto; à Larissa e equipe do Laboratório de Biologia Molecular da Santa Casa de Porto Alegre, que realizaram a testagem das amostras; e ao Dr Alessandro Pasqualotto pela participação conjunta durante todas as etapas do projeto e da revisão dos manuscritos a serem publicados.

Por fim, agradeço ao meu orientador, Dr Diego Falci, pela condução e orientação na realização dos trabalhos que compuseram minha pós-graduação em Ciências Médicas. Como professor, sempre incentivou minha participação nas disciplinas e encontros acadêmicos, destacando a importância da pesquisa clínica para o aprimoramento da Medicina, apesar de todos os obstáculos. Graças às nossas discussões, muitos dos trabalhos propostos modificaram-se nesse período, tornando-se melhores. Espero ter retribuído essa confiança. Obrigado.

## RESUMO

A histoplasmose é a segunda doença granulomatosa mais frequente em pacientes tratados com inibidores do TNF- $\alpha$ , depois apenas da tuberculose. No entanto, informações são limitadas quanto a sua incidência precisa, assim como a procedimentos de triagem pré-tratamento e a necessidade de terapias preventivas para pacientes que iniciarão imunobiológicos. **Objetivo:** Os principais objetivos deste trabalho foram determinar a prevalência e fatores de risco para histoplasmose disseminada em pacientes não-HIV recebendo terapias biológicas do tipo Anti-TNF- $\alpha$ . Objetivos secundários incluíram determinar morbidade e a mortalidade naqueles pacientes com infecção pelo *Histoplasma capsulatum*, assim como fatores de exposição associados à doença e variáveis clínicas que poderiam predizer a ocorrência de sua forma disseminada. **Métodos:** Foi realizado um estudo de coorte que avaliou a prevalência de infecção por *H. capsulatum* em pacientes HIV-negativos assintomáticos antes do início de inibidores de TNF- $\alpha$  por meio do teste de antígeno de *Histoplasma* em amostras de urina. Todos os pacientes incluídos completaram um acompanhamento de 180 dias após o início da terapia para avaliar o aparecimento de sintomas sugestivos de histoplasmose. O trabalho também contou com uma Revisão Sistemática e Metanálise sobre a incidência de histoplasmose em pessoas em uso de inibidores do TNF- $\alpha$ . **Resultados:** Foram incluídos 54 pacientes, no período de janeiro de 2021 a dezembro de 2022, que receberam prescrição de agente inibidor de TNF- $\alpha$  para o tratamento de doenças autoimunes em dois centros localizados em Porto Alegre - RS, no sul do Brasil. Na triagem antes da terapia biológica, a prevalência de antígeno de *Histoplasma* urinário positivo foi de 14,8%. Nenhum dos 54 pacientes desenvolveu histoplasmose após 6 meses de terapia imunobiológica, incluindo os 8 pacientes que testaram positivo no período de rastreamento. **Conclusão:** A Revisão Sistemática e Metanálise sugeriu que o risco de histoplasmose durante a terapia inibitória do TNF- $\alpha$  pode ser consideravelmente maior do que o encontrado nas estimativas clássicas, especialmente em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal. O estudo de coorte sugeriu que prevalência de infecção por *Histoplasma capsulatum* em pacientes crônicos pode ser maior do que o esperado, mas o impacto de uma infecção latente assintomática ainda é incerto, inclusive naqueles que iniciam tratamento com imunobiológicos como os inibidores de TNF- $\alpha$ . Nosso estudo não identificou fatores de risco para o diagnóstico de histoplasmose disseminada nesse grupo, incluindo teste de antígeno positivo antes do início da terapia biológica. Até o momento, não há evidências para recomendar triagem com teste para detecção de *Histoplasma* de rotina ou terapia preventiva antes do início de um inibidor de TNF- $\alpha$ .

**Palavras-chave:** Histoplasmose, Inibidores do TNF- $\alpha$ , Anti-TNF- $\alpha$ , Medicamentos biológicos, Artrite Reumatoide, Doença Inflamatória Intestinal.

## ABSTRACT

Histoplasmosis is the second most common granulomatous disease in patients treated with TNF- $\alpha$  inhibitors, after tuberculosis. However, information is limited regarding its precise incidence, as well as pre-treatment screening procedures and the need for preventive therapies for patients starting immunobiologicals. **Objective:** The main objectives of this study were to determine the prevalence and risk factors for disseminated histoplasmosis in non-HIV patients receiving anti-TNF- $\alpha$  biological therapies. Secondary objectives included determining morbidity and mortality in patients with *Histoplasma capsulatum* infection, as well as exposure factors associated with the disease and clinical variables that could predict the occurrence disseminated infection. **Methods:** This was cohort study that evaluated the prevalence of *H. capsulatum* infection in asymptomatic HIV-negative patients before starting a TNF- $\alpha$  inhibitor through *Histoplasma* antigen testing in urine samples. All included patients completed a 180-day follow-up after starting therapy to assess the onset of symptoms suggestive of histoplasmosis. This study also included a Systematic Review and Meta-Analysis on the incidence of histoplasmosis in people using TNF- $\alpha$  inhibitors. **Results:** From January 2021 to December 2022, 54 patients who were prescribed a TNF- $\alpha$  inhibitor agent for the treatment of autoimmune diseases were included, in two centers located in a city in southern Brazil. In the screening before biological therapy, the prevalence of a positive urinary *Histoplasma* antigen was 14.8%. None of the 54 patients developed histoplasmosis after 6 months of immunobiological therapy, including the 8 patients who tested positive during the screening period. **Conclusion:** The Systematic Review and Meta-Analysis suggested that the risk of histoplasmosis during TNF- $\alpha$  inhibitory therapy may be considerably higher than that found in classical estimates, especially in patients with Inflammatory Bowel Disease. The cohort study suggested that the prevalence of *Histoplasma capsulatum* infection in chronic patients may be higher than expected, but the impact of an asymptomatic latent infection is still uncertain, including in those starting treatment with immunobiologicals such as TNF- $\alpha$  inhibitors. Our study did not identify risk factors for the diagnosis of disseminated histoplasmosis in this group, including a positive antigen test before starting biological therapy. To date, there is no evidence to recommend routine *Histoplasma* screening or preventive therapy before starting a TNF- $\alpha$  inhibitor.

**Keywords:** Histoplasmosis, TNF- $\alpha$  inhibitors, Anti-TNF- $\alpha$ , Biological drugs, Rheumatoid Arthritis, Inflammatory Bowel Disease.

## LISTA DE FIGURAS

### Dissertação

- Figura 1** – Estratégias para localizar e selecionar as informações ..... 14
- Figura 2** – Marco conceitual: Histoplasmosose *versus* Anti-TNF- $\alpha$  ..... 29

### Artigo 1

- Figura 1** – Flow diagram for the systematic review of databases and records on the incidence of Histoplasmosis in patients receiving TNF-alpha inhibitors ..... 44
- Figura 2** – Forest plot of the Meta-analysis of the selected studies ..... 47
- Figura 3** – Forest plot of the Meta-analysis of the selected studies, excluding those exclusively involving etanercept ..... 48
- Figura 4** – Forest plot of the Meta-analysis of the selected studies stratified by inflammatory bowel disease, rheumatic diseases, and a global group) ..... 48

**LISTA DE TABELAS****Artigo 1****Tabela 1** – Studies included in the meta-analysis ..... 45**Artigo 2****Tabela 1** – Main characteristics of the patients at time of inclusion ..... 67**Tabela 2** – Comparison between patients with positive and negative *Histoplasma* antigen test in urine samples ..... 68

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ADA – Adalimumabe  
AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
Anti-TNF- $\alpha$  - Inibidor do TNF-alfa  
AIJ – Artrite Idiopática Juvenil  
AP – Artrite Psoriática  
AR – Artrite Reumatoide  
AZA – Azatioprina  
BCG – *Bacillus Calmette-Guérin*  
CTZ / CERT – Certolizumabe  
CI 95% – Intervalo de Confiança de 95%  
DC – Doença de Crohn  
DII – Doença Inflamatória Intestinal  
ETN- Etanercepte  
EUA – Estados Unidos da América  
FDA - Food and Drug Administration (Estados Unidos)  
GOL - Golimumabe  
HA<sub>g</sub> – Antígeno de *Histoplasma*  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana  
HUM - Homicade  
IFN- $\gamma$  – Interferon Gamma  
IFX – Infliximabe  
IL – Interleucina  
IL-TB – Infecção Latente por Tuberculose  
IRIS - Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune  
JAK – Janus-Kinase  
LFN - Leflunomida  
MTX - Metotrexato  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
RCU – Retocolite Ulcerativa  
TNF- $\alpha$  - Fator de Necrose Tumoral Alfa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	13
<b>2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações</b> .....	13
2.1.1. <i>Pesquisa de estudos elegíveis</i> .....	13
2.1.2. <i>Critérios para a seleção dos estudos</i> .....	13
2.1.3. <i>Objetivos da revisão da literatura</i> .....	13
2.1.4. <i>Resultados da revisão da literatura</i> .....	14
<b>2.2. Mecanismo de ação dos inibidores de TNF-<math>\alpha</math></b> .....	15
<b>2.3. Defesa do hospedeiro contra <i>Histoplasma capsulatum</i></b> .....	15
<b>2.4. Bloqueio de TNF-<math>\alpha</math> e risco de infecção</b> .....	17
<b>2.5. Terapia inibitória do TNF-<math>\alpha</math> e histoplasmose – linha do tempo</b> .....	18
<b>2.6. Tratamento da histoplasmose em pacientes em uso de inibidores de TNF-<math>\alpha</math></b> .....	23
<b>2.7. Terapia inibitória do TNF-<math>\alpha</math> e risco de histoplasmose – questionamentos atuais</b> .....	25
<b>3. MARCO CONCEITUAL</b> .....	29
<b>3.1. Detalhamento do Marco Conceitual</b> .....	30
<b>4. JUSTIFICATIVA</b> .....	31
<b>4.1. Produtos esperados como resultado da execução do projeto</b> .....	31
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	32
<b>5.1. Objetivo primário</b> .....	32
<b>5.2. Objetivos secundários</b> .....	32
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	33
<b>7. ARTIGO 1 – Revisão Sistemática da Literatura e Metanálise: “Incidence of Histoplasmosis in patients receiving TNF-alpha inhibitors: A systematic review and meta-analysis”</b> .....	41
<b>8. ARTIGO 2 – Artigo original: “Disseminated Histoplasmosis in patients receiving TNF-alpha inhibitors: Screening with urinary <i>Histoplasma</i> Antigen test before therapy”</b> .....	55

<b>9. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>69</b>
<b>10. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>70</b>
<b>11. ANEXOS E/OU APÊNDICES.....</b>	<b>71</b>
<b>11.1 Formulários .....</b>	<b>71</b>
<i>11.1.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</i>	<i>71</i>
<i>11.1.2. Ficha clínica para coleta de dados .....</i>	<i>73</i>
<b>11.2 Checklists dos guidelines STROBE e PRISMA dos artigos originais .....</b>	<b>78</b>
<i>11.2.1 PRISMA checklist para o Artigo 1 .....</i>	<i>78</i>
<i>11.2.2 STROBE checklist para o Artigo 2 .....</i>	<i>80</i>

## 1. INTRODUÇÃO

Doenças negligenciadas representam um grupo heterogêneo de infecções, especialmente doenças tropicais, geralmente caracterizadas por opções diagnósticas e terapêuticas limitadas, especialmente em países em desenvolvimento na África, Ásia e Américas. Essas doenças são causadas por uma variedade de patógenos, incluindo vírus, bactérias, protozoários, fungos e helmintos. O impacto dessas doenças na África subsaariana é comparável à malária e tuberculose, estas consideradas as grandes causas de mortalidade no planeta. Populações vivendo na pobreza, sem condições sanitárias adequadas e em contato com vetores, animais domésticos e selvagens, e outras fontes naturais de infecções, estão entre as mais afetadas.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) empreende esforços no sentido da eliminação ou mitigação dos efeitos dessas moléstias na população mundial, através de ações internacionais de saúde pública. Recentemente, o grupo de trabalho da OMS divulgou a “The World Health Organization Fungal Priority Pathogens List” (a *Lista de patógenos fúngicos prioritários da OMS*, em tradução livre) [1]. As doenças fúngicas invasivas estão aumentando globalmente, e a lista destaca fungos de importância alta ou crítica para a saúde humana e fornece caminhos para ação. O relatório apela a uma melhor vigilância (diagnóstico e monitorização da resistência antifúngica), investigação e inovação (investigação de implementação) e intervenções de saúde pública [1].

Presente “Fungal Priority Pathogens List” da OMS e considerada uma doença negligenciada, a **histoplasmose** - infecção causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum* - é identificada globalmente, mas considerada endêmica ou hiperendêmica no Centro-Oeste dos Estados Unidos (EUA) e em muitas regiões da América Central e do Sul, ocorrendo também na Ásia e na África [2, 3]. A doença é considerada uma das micoses endêmicas mais comuns em pacientes infectados pelo HIV nessas áreas, causando alta morbidade e mortalidade [4]. Noventa e cinco por cento (95%) dos pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e infecção por *Histoplasma capsulatum* desenvolvem doença disseminada, com 90% destes apresentando contagens de CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup> no momento do diagnóstico [5]. Nos EUA, a histoplasmose ocorre em 5% das pessoas (incluindo pessoas imunocompetentes) que residem em cidades localizadas em áreas endêmicas, que incluem os vales dos rios Ohio e Mississippi [6].

O tratamento de doenças inflamatórias autoimunes, como artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal, psoríase, artrite psoriática e espondilite anquilosante, tem avançado

significativamente com o desenvolvimento das terapias imunobiológicas, principalmente nos casos refratários ao tratamento com medicamentos tradicionais. Entre as primeiras drogas desse grupo a serem incorporadas à prática clínica estão os inibidores do fator de necrose tumoral alfa (inibidores do TNF- $\alpha$ , também chamados de Anti-TNF- $\alpha$ ), aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) na década de 1990 [7-11]. Desde então, vários outros agentes foram aprovados, visando outros mediadores inflamatórios como a interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-12, IL-23. No entanto, embora sejam considerados fundamentais na terapia de resgate para doenças refratárias, eles têm grande potencial para bloquear a resposta imune necessária contra infecções [12-14]. Assim, pacientes em uso dessas drogas apresentam risco aumentado para infecções consideradas oportunistas, notadamente a tuberculose [15].

Dentre as infecções fúngicas, a histoplasmose é considerada a infecção oportunista mais frequente em pacientes em uso de inibidores de TNF- $\alpha$  em áreas endêmicas [16]. O uso generalizado dessas terapias nos EUA resultou em um aumento significativo de internações por essa doença em territórios endêmicos para histoplasmose [18]. Semelhante aos pacientes com AIDS, a mortalidade pode ser alta, aproximando-se de 20%, o que pode ser uma complicação de um diagnóstico tardio [17, 18]. Além disso, a frequência de histoplasmose pode variar dependendo dos diferentes inibidores de TNF- $\alpha$ , do uso concomitante de outros agentes imunossupressores (por exemplo, corticosteroides) e até mesmo do tipo de doença autoimune [19].

A histoplasmose, manifestando-se como doença oportunista, é um desafio reconhecido dentro do cuidado a saúde de pessoas vivendo com HIV, com considerável prevalência entre aqueles que se apresentam à emergência com quadros febris em diferentes regiões do Brasil, indicando que o fungo está presente em nosso ambiente [18]. Entretanto, apesar do grande número de pacientes em tratamento com drogas imunossupressoras, incluindo inibidores do TNF- $\alpha$ , e da preocupação com a ocorrência de histoplasmose como doença infecciosa oportunista, ainda são poucos os trabalhos que avaliam sua real prevalência e impacto como causa de morbimortalidade.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Estratégias para localizar e selecionar as informações

#### 2.1.1. Pesquisa de estudos elegíveis

Os estudos elegíveis à revisão sistemática presente nesta dissertação (Artigo 1) foram identificados por meio de pesquisa nas plataformas Pubmed MEDLINE, Embase e Cochrane Library a partir da inserção da seguinte combinação de palavras-texto: (Tumor Necrosis Factor Inhibitors[mh] OR TNF Inhibitor\* OR TNF-alpha inhibitor\* OR Anti-TNF\*[tw]) AND (Histoplasmosis[mh]), (Rheumatoid arthritis[mh] OR inflammatory bowel disease[mh]) AND (Histoplasmosis[mh]), (Rheumatoid arthritis[mh] OR inflammatory bowel disease[mh]) AND (mycosis[mh] OR fungal infections[mh]), (Rheumatoid arthritis[mh] OR inflammatory bowel disease[mh]) AND (invasive fungal infection[mh]), (Tumor Necrosis Factor Inhibitors OR Anti-TNF) AND (mycosis[mh] OR fungal infections[mh]), and (Immunosuppressive Drugs OR Immunosuppressants[mh]) AND (Histoplasmosis[mh]). Foram selecionados artigos publicados desde 1998 (ano da aprovação pela FDA do primeiro medicamento do tipo inibidor de TNF-alfa) até fevereiro de 2023. As referências dos artigos selecionados também foram examinadas para revisão.

#### 2.1.2. Critérios para a seleção dos estudos

Estudos publicados em inglês no período delimitado foram considerados elegíveis para a revisão de literatura. Para a seção 2 da presente dissertação, Revisão de Literatura, foram selecionados trabalhos que continham séries de casos de pacientes diagnosticados com histoplasmose durante terapia com agentes inibidores de TNF- $\alpha$  e artigos que realizaram revisões relevantes que contribuíram para o conhecimento atual da relação entre a infecção e as terapias em análise. Publicações tratando de relatos de casos únicos ou estudos com modelos não-humanos de histoplasmose não foram incluídas no grupo principal, embora algumas delas sejam mencionadas neste texto para notas relevantes em pontos específicos.

#### 2.1.3. Objetivos da revisão da literatura

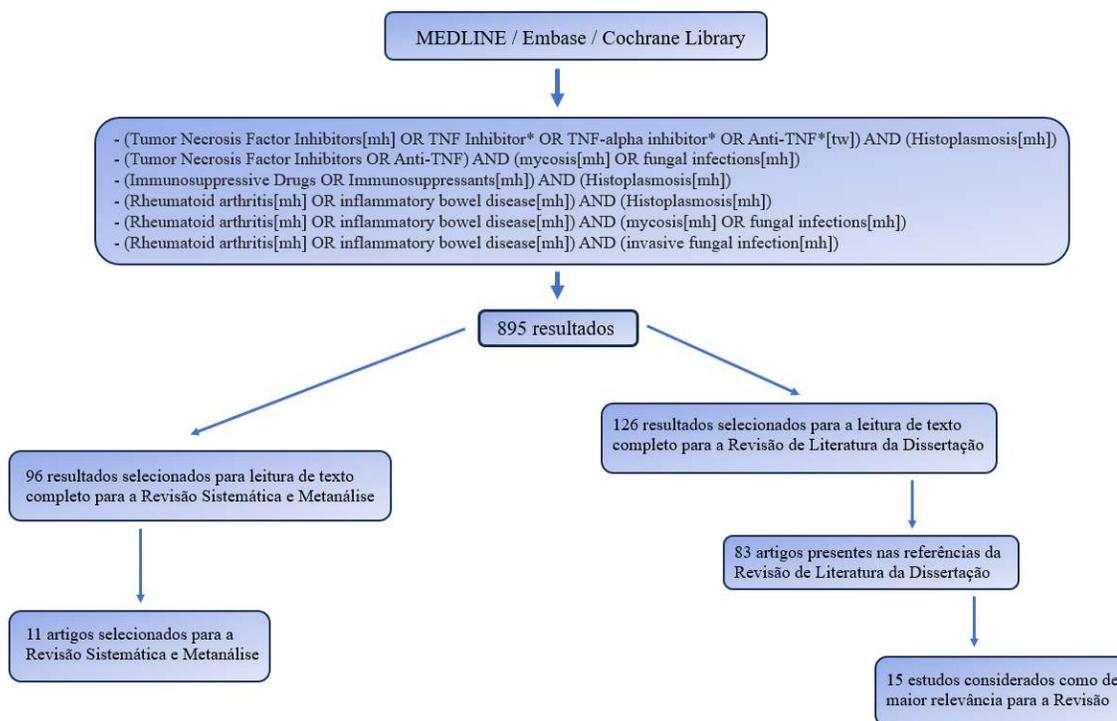
Esta revisão da literatura médica teve como objetivo sintetizar o entendimento atual da associação entre histoplasmose, uma doença fúngica oportunista, e uma população submetida a um tratamento específico, a terapia com agentes inibidores do TNF- $\alpha$  como medicamento para doenças autoimunes. Como pode-se perceber, essa foi uma relação que foi gradativamente

percebida e cada vez mais compreendida no último quarto de século. Serão discutidos tópicos como a fisiopatologia da infecção e estimativas de risco na população exposta.

#### 2.1.4. Resultados da revisão da literatura

Utilizando as estratégias de busca, após eliminar registros duplicados e combinar as coleções (MEDLINE, Embase e Cochrane Library), foram obtidos 895 resultados. Após a análise dos resumos, para a Revisão da Literatura, 126 estudos foram selecionados para a leitura de texto completo. Após essa triagem, foram selecionados os 83 artigos que constam na lista de Referências Bibliográficas utilizadas neste trabalho, sendo que deste grupo 15 estudos foram considerados como de maior relevância para esta revisão, por sua contribuição ao tema de pesquisa, e estão assinalados em **negrito** no corpo de referências [17,19-32]. As estratégias de busca e seus resultados estão sumarizados na **Figura 1** do trabalho.

**Figura 1**



**Figura 1** – Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo. Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## 2.2. Mecanismo de ação dos inibidores de TNF- $\alpha$

O reconhecimento do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) como um dos mediadores centrais de diversos processos inflamatórios levou à investigação de agentes inibidores do TNF- $\alpha$  como opção terapêutica para o tratamento de doenças inflamatórias, especialmente condições autoimunes, como doenças reumáticas e doença inflamatória intestinal (DII) [33]. O primeiro fármaco da classe dos inibidores do TNF- $\alpha$  a ser aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos em outubro de 1998 foi o Infliximabe (*Remicade*®), como opção terapêutica para pacientes com doença de Crohn (DC) ativa moderada a grave, refratária às terapias convencionais e para DC fistulizante. Em novembro de 1999, o FDA ampliou a indicação do uso de Infliximabe (em combinação com metotrexato) para incluir o tratamento da artrite reumatoide (AR) moderada a grave ativa, refratária à terapia isolada com metotrexato. Concomitantemente, o Etanercepte (*Enbrel*®) foi aprovado para o tratamento da AR em novembro de 1998, para o tratamento da AR juvenil poliarticular em 1999 e para o tratamento da artrite psoriática em janeiro de 2002. Em dezembro de 2002, o Adalimumabe (*Humira*®) foi aprovado para uso médico pela FDA, e hoje Certolizumabe pegol (*Cimzia*®) e Golimumabe (*Simponi*®) também são drogas inibidoras de TNF- $\alpha$  aprovadas.

O Infliximabe é um anticorpo monoclonal quimérico recombinante contendo uma região variável murina e uma região constante IgG1 humana. Tem especificidade para todas as formas de TNF- $\alpha$  em humanos e bloqueia efetivamente a ligação do TNF- $\alpha$  aos seus receptores solúveis e transmembrana. Esse bloqueio leva à apoptose nas células que expressam TNF- $\alpha$ , além de bloquear a produção de Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), produzindo assim um efeito anti-inflamatório [34]. Adalimumabe, Golimumabe são anticorpos monoclonais IgG1 totalmente humanizados e Certolizumabe é um fragmento Fab de anticorpo humanizado e recombinante, todos capazes de bloquear especificamente a ligação do TNF- $\alpha$  humano aos seus receptores. Diferentemente, o Etanercepte é uma proteína recombinante constituída pela porção extracelular do receptor humano do TNF (TNFR) fusionada ao fragmento Fc da IgG1 humana. Nesse caso, o Etanercepte atua ligando-se ao TNF- $\alpha$  solúvel (sTNF- $\alpha$ ) ou TNF- $\alpha$  transmembrana (tTNF- $\alpha$ ), inativando-os e, portanto, inibindo sua interação com os receptores de TNF da superfície celular nos tecidos [34].

## 2.3. Defesa do hospedeiro contra *Histoplasma capsulatum*

O TNF- $\alpha$  desempenha um papel muito importante na defesa do hospedeiro contra várias doenças infecciosas. O TNF- $\alpha$  endógeno é produzido por macrófagos ativados e células T, entre

outras células, em resposta a lesões e inflamações, desencadeando cascatas de produção de outras citocinas e quimiotaxia das células de defesa do organismo até o local da infecção [23,34,35]. Estudos em modelos animais, por meio de diferentes abordagens experimentais, examinaram o envolvimento do TNF- $\alpha$  na imunidade protetora contra vários patógenos, incluindo micobactérias como *Mycobacterium tuberculosis* e *M. bovis Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), e fungos como *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* e *Histoplasma capsulatum* [36-45]. A sinalização do TNF- $\alpha$  é particularmente relevante na imunidade granulomatosa contra o fungo *Histoplasma*.

Uma das características mais significativas da defesa do hospedeiro contra micobactérias e fungos é a formação de granulomas. Os granulomas são nódulos inflamatórios formados por um conjunto circunscrito de células mononucleares como macrófagos, células epitelioides, células gigantes, circundadas por linfócitos T e, em alguns casos, por plasmócitos. Eles podem ocorrer em diferentes situações no corpo, mas são mais bem reconhecidos como uma tentativa do sistema imunológico do hospedeiro de isolar um microrganismo (bactérias, fungos) ou corpo estranho (queratina, fragmentos de sutura) que não foi capaz de eliminar dos tecidos adjacentes, constituindo um processo de inflamação crônica. No entanto, apesar de ser um micróbio invasor, o granuloma pode acabar fornecendo um microambiente protetor para o patógeno. O TNF- $\alpha$  é considerado crucial para a formação do granuloma e parece ser necessário para a manutenção do processo [40, 46]. Essa citocina constitui um importante sinal na ativação de macrófagos, juntamente com o IFN- $\gamma$ , bem como na mediação de apoptose de células infectadas [40,47].

Em relação à defesa do hospedeiro contra *Histoplasma capsulatum*, entende-se que a inflamação granulomatosa desempenha um papel tanto na proteção contra a infecção primária quanto na prevenção da reativação do fungo de um estado latente [48]. *H. capsulatum* é um fungo dimórfico ambiental, que existe como um fungo filamentosos no ambiente e uma levedura nos tecidos do corpo [3,49,50]. A infecção em humanos ocorre após o fungo (na forma de microconídios em aerossol ou fragmentos de hifas) ser inalado, entrar no sistema respiratório e atingir os alvéolos. Nos alvéolos, transforma-se em levedura, processo que pode ocorrer tanto dentro quanto fora dos fagócitos [51]. Nessa fase, embora as células fagocitárias, principalmente os macrófagos, atuem como primeira linha de defesa, acabam contribuindo para a disseminação da infecção, pois de dentro dos fagócitos o *Histoplasma* sobrevivente se espalha pelo sistema reticuloendotelial, através da migração dessas células de defesas aos gânglios linfáticos. Dentro de algumas semanas, quando a imunidade celular específica contra *H. capsulatum* se desenvolve, as células T sensibilizadas ativam os macrófagos, que são capazes

de eliminar o patógeno ou levar à formação de granulomas [48]. Nesse processo de imunidade celular, as citocinas TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  atuam como importantes mediadores. A gravidade da doença primária é determinada pelo número de conídios que são inalados e pela resposta imune do hospedeiro - na maioria dos indivíduos, a infecção é assintomática ou manifesta-se apenas por sintomas leves e inespecíficos. Se a imunidade mediada por células for deficiente devido a drogas imunossupressoras ou uma doença subjacente, os organismos permanecem viáveis dentro dos macrófagos, causando uma infecção progressiva. Em um hospedeiro gravemente imunocomprometido, mesmo um pequeno inóculo pode causar infecção pulmonar grave ou progredir para histoplasmose disseminada [3-5].

Após a doença primária, a histoplasmose pode persistir no corpo como uma infecção crônica. A ativação de macrófagos por células T e a formação de granulomas organizados são funções da resposta adaptativa do sistema imunológico e podem ocorrer com padrões variados [34]. Quando esta resposta leva a uma maior depuração da carga fúngica presente nas células do hospedeiro, a proteção a longo prazo contra a infecção é mais eficaz. Por outro lado, se houver uma resposta imune mais direcionada à contenção do *Histoplasma* nos granulomas, há potencial para reativação do microrganismo [52]. Por ser um patógeno intracelular que desenvolveu vários mecanismos de resistência que perpassam as defesas iniciais dos hospedeiros, o *Histoplasma* é capaz de permanecer viável nos tecidos por anos, em estado latente [48,50]. Nesse caso, o granuloma fornece um microambiente isolado, atuando como um ecossistema particular para o patógeno no hospedeiro. Assim, a lesão granulomatosa crônica pode ser o reservatório do qual os patógenos sobreviventes emergem para reativar a infecção quando uma latência de longo prazo for interrompida por falhas do sistema imunológico [48].

Algumas características da formação do granuloma pelo sistema imune adaptativo e sua contribuição na prevenção da infecção secundária por *Histoplasma capsulatum* ainda estão sendo estudadas. O aspecto dos granulomas é sarcoide, com células epitelioides no centro, em conjunto com o *Histoplasma* e células apoptóticas contidas. As células mais ativas no processo são os linfócitos e os macrófagos, sendo estes últimos considerados a principal fonte local de TNF- $\alpha$ . Essas lesões contêm subconjuntos de células T CD4+ e CD8+, que são a fonte primária de IFN- $\gamma$  e Interleucina-17 (IL-17), considerados necessários para a manutenção do processo [48,53].

#### 2.4. Bloqueio de TNF- $\alpha$ e risco de infecção

Muito do que hoje se entende como o papel do TNF- $\alpha$  no controle de infecções e na resposta imune granulomatosa deve-se a estudos envolvendo modelos animais nos quais sua atividade foi reduzida ou suprimida. Experimentos envolvendo camundongos foram especialmente importantes para entender a atividade do TNF- $\alpha$  na resposta a patógenos intracelulares. A partir do contato inicial com um microrganismo, a sinalização do TNF- $\alpha$  está envolvida no recrutamento de células inflamatórias, estimulando a secreção de citocinas como CCL-2, -3, -4, -5 e -8 pelas células T e macrófagos, além de induzir a expressão de moléculas de adesão no epitélio vascular, contribuindo para o influxo de células fagocitárias para o local da infecção [54,55]. Assim, acredita-se que o bloqueio da atividade do TNF tenha impacto na atividade de outras citocinas que participam da resposta imune coordenada ao *Histoplasma capsulatum*. Em alguns experimentos, a neutralização do TNF em camundongos causou tanto uma diminuição no recrutamento de células inflamatórias quanto na formação de granulomas [35,54]. Animais deficientes em TNF tornam-se altamente suscetíveis a infecções granulomatosas [47,56-58]. Em outros trabalhos com modelos murinos, os camundongos nos quais a produção de TNF- $\alpha$  foi afetada por inativação genética ou induzido por drogas sofreram com a formação de granulomas que eram insuficientes em número ou função quando expostos a *M. bovis BCG* [35], *M. tuberculosis* [47] e *H. capsulatum* [36,37], além de sofrer regressão acelerada de granulomas já formados [35].

Ainda, o TNF- $\alpha$  também é considerado crítico para a ativação de macrófagos e consequente eliminação de patógenos intracelulares capturados. Camundongos deficientes em TNF ou receptores de TNF mostraram cargas microbianas significativamente mais altas e vida útil mais curta após infecções com *Listeria monocytogenes*, *M. tuberculosis* ou *Histoplasma capsulatum* [39,47,54]. O bloqueio da atividade do TNF- $\alpha$  leva à retomada do crescimento micobacteriano dentro dos granulomas durante a infecção latente crônica [33], bem como à desintegração estrutural dos granulomas estabelecidos [35]. O TNF também participa da regulação de processos inflamatórios, sendo por um lado capaz de induzir apoptose em células portadoras de alguns tipos de TNFR (como o TNFRp55), como mecanismo de defesa contra respostas imunes celulares excessivas, e por outro estimulando a manutenção da viabilidade de macrófagos no local da infecção [59]. Em camundongos deficientes no gene TNFRp55 (modelos TNFRp55<sup>-/-</sup>), a desestabilização dos granulomas associada à hiperinflamação desregulada foram determinantes para a morte prematura após infecção por *Mycobacterium avium* [60].

## 2.5. Terapia inibitória do TNF- $\alpha$ e histoplasmose – linha do tempo

Desde a aprovação dos inibidores de TNF- $\alpha$  para o tratamento de doenças autoimunes em 1998, possíveis efeitos adversos relacionados à ocorrência de infecções têm sido uma grande preocupação, considerando o potencial imunossupressor desses agentes. Embora os ensaios clínicos controlados por placebo pré-aprovação não tenham indicado um risco aumentado de complicações infecciosas em pessoas que usam esses medicamentos, após o licenciamento, o fabricante do Infliximabe e o FDA receberam relatórios de complicações infecciosas nesses pacientes, incluindo casos de histoplasmose. Após dois relatos de casos de histoplasmose associados ao uso de Infliximabe [61,62], a primeira série de casos de doença grave causada por *H. capsulatum* em pacientes em uso de inibidores de TNF- $\alpha$  foi publicada em 2002 por Lee *et al.* [20]. Dez casos de histoplasmose foram relatados, sendo nove associados ao uso de Infliximabe e um associado ao Etanercepte. Naqueles pacientes tratados com Infliximabe, as manifestações de histoplasmose ocorreram dentro de 1 semana a 6 meses após o início da terapia e geralmente incluíram febre, mal-estar, tosse, dispneia e pneumonite intersticial. O único paciente em uso de Etanercepte desenvolveu sintomas após 11 meses de tratamento. Na maioria dos casos, o diagnóstico foi feito a partir de biópsia, transbrônquica ou de pulmão aberto. Desse grupo de 10 pacientes, 7 tiveram evidência clara de doença disseminada, 9 necessitaram de tratamento em unidade de terapia intensiva e 1 foi a óbito. Todos os pacientes recebiam outras drogas imunossupressoras concomitantemente ao tratamento com inibidor de TNF- $\alpha$  no momento do diagnóstico e todos residiam em regiões endêmicas para *H. capsulatum*. Este artigo chamou a atenção para o tema, alertando para casos semelhantes e, nos anos seguintes, mais relatos de casos foram publicados.

Em 2003, Wood *et al.* relataram o caso de 3 pacientes que desenvolveram histoplasmose disseminada após tratamento com agentes inibidores de TNF- $\alpha$ , em que o antígeno urinário de *Histoplasma* e a fixação de complemento foram utilizados como métodos diagnósticos complementares [21]. Os pesquisadores também produziram um modelo *in vitro* de histoplasmose, no qual linfócitos alveolares e macrófagos coletados de voluntários saudáveis foram expostos ao *H. capsulatum*, resultando em proliferação de células T e secreção de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , citocinas associadas à resposta TH1 de sistema imunológico. Na presença de anticorpos contra o TNF- $\alpha$ , a proliferação de células T e a resposta TH1 foram inibidas, em comparação aos controles. Portanto, pensava-se que um maior risco de histoplasmose disseminada em pacientes tratados com inibidores de TNF- $\alpha$  viria do impacto dessa droga ao braço TH1 da imunidade celular. Embora os autores tenham sugerido como conduta para a prática clínica a triagem para exposição ao *Histoplasma* ao início da terapia inibitória do TNF-

$\alpha$ , não ficou claro se uma história de exposição prévia ao fungo prediz o risco de reativação da infecção latente.

Se a ocorrência de histoplasmose durante um tratamento se deve à reativação de infecção latente após o início de um inibidor de TNF- $\alpha$  ou se é o surgimento de uma nova infecção, ou reinfecção, que não pôde ser contida por um hospedeiro imunossuprimido, é motivo de debate desde o surgimento dos primeiros casos nesta população. Nakelchik e Mangino, em relato publicado em 2002, descrevem o caso de uma mulher de 52 anos que desenvolveu histoplasmose grave apenas 9 semanas após o início da terapia com Infliximabe, mais prednisona em dose baixa, para AR, apesar de ter um longo histórico de tratamento com outros imunossupressores, como micofenolato, metotrexato e corticoide em altas doses [61]. A paciente era uma residente vitalícia de Ohio/EUA, sem histórico de viagem relevante. Examinando a temporalidade dos eventos, foi considerada a reativação da histoplasmose, mesmo que ela morasse em área endêmica para a infecção. O primeiro relato claro documentando a reativação da histoplasmose latente após o início de um inibidor de TNF- $\alpha$  foi publicado em 2006 por Jain *et al.* [63]. Um paciente do sexo masculino que desenvolveu sintomas aproximadamente um ano após o início do tratamento com Infliximabe mais corticosteroides intermitentes e foi diagnosticado após crescimento de *H. capsulatum* em cultura de lavado broncoalveolar. Embora tenha negado viagens nos últimos 5 anos para fora da Califórnia, estado americano onde o *Histoplasma* é considerado pouco frequente, havia viajado 5 anos antes para uma área endêmica do fungo, sugerindo reativação de infecção anterior.

A relação entre o uso de inibidores de TNF- $\alpha$  e a ocorrência de doenças granulomatosas foi bastante discutida por Wallis *et al.* em 2004, quando foram examinados dados coletados pelo Sistema de Notificação de Eventos Adversos da FDA dos EUA de janeiro de 1998 a setembro de 2002 [22]. No geral, infecções granulomatosas foram relatadas em taxas de aproximadamente 239 por 100.000 pacientes tratados com Infliximabe, e aproximadamente 74 por 100.000 pacientes usando Etanercepte. Enquanto a tuberculose permaneceu a infecção granulomatosa mais comum nesses grupos, a histoplasmose mostrou-se a segunda doença mais frequente, com 42 casos identificados em cerca de 346.000 pacientes americanos tratados neste período de quase 5 anos, com indivíduos provenientes principalmente de conhecidas áreas endêmicas. Foram 39 casos de histoplasmose em 233.000 pessoas em uso de Infliximabe e 3 casos em 113.000 pessoas que receberam Etanercepte, ou seja, uma ocorrência de 16,7 e 2,7 pacientes com a doença para cada 100.000 que receberam cada medicamento, respectivamente. Nesse cenário, a razão de taxas de infecção por *Histoplasma* foi de 6,3 para Infliximabe *versus*

Etanercepte, apontando para um risco significativamente maior para o primeiro medicamento. O diagnóstico geral de infecção granulomatosa ocorreu em 72% dos pacientes em uso de Infliximabe nos primeiros 90 dias de terapia, o que foi considerado compatível com reativação de uma infecção latente, embora não tenha sido especificado quantos desses casos eram de histoplasmose. No ano seguinte, uma nova estimativa foi publicada pelo grupo a partir de revisão da base de dados, na qual a incidência de histoplasmose em pacientes tratados com inibidores do TNF- $\alpha$  foi de 18,78 por 100.000 pessoas tratadas com Infliximabe e 2,65 por 100.000 pessoas tratadas com Etanercepte [64]. Este são, até hoje, os números mais citados sobre a incidência de infecção por *Histoplasma* nos grupos citados, com alerta à variação esperada de acordo com a localização geográfica os centros em relação às áreas endêmicas [24]. Entretanto, algumas estimativas destacam que, embora a tuberculose ainda se apresente como a doença granulomatosa mais comum em usuários de inibidores de TNF- $\alpha$ , a histoplasmose tem 3 vezes mais chances de causar uma infecção grave [65].

O entendimento da histoplasmose como a micose invasiva mais frequente em pessoas em terapia bloqueadora do TNF- $\alpha$  foi reforçada pelo estudo publicado por Tsiodras *et al.* em 2007, que examinou relatos de infecções fúngicas invasivas nesses pacientes publicados nas plataformas MEDLINE e PubMed desde janeiro de 1966 a junho de 2007 [17]. Dos 281 casos de doença fúngica invasiva relatados nesta população, a infecção fúngica invasiva mais prevalente foi a histoplasmose (n=84 [30%]), seguida de candidíase (n=64 [23%]) e aspergilose (n=64 [23%]). Naqueles com histoplasmose, 72 casos (86%) foram associados ao uso de Infliximabe, 8 (10%) ao Etanercepte e 4 (5%) ao Adalimumabe. A maioria dos casos com dados disponíveis ocorreu em áreas endêmicas para o fungo, e todos os pacientes receberam medicação imunossupressora concomitante. Dos pacientes com dados disponíveis (42% do total), 27 (77%) eram tratados para AR e 8 (23%) tinham DII. O número mediano de infusões antes do diagnóstico foi de 3 (intervalo interquartil [IQR] 2-7) para pacientes tratados com Infliximabe (n=15). Neste estudo, o tratamento dos casos de histoplasmose geralmente incluiu anfotericina B e itraconazol, mesmo assim a mortalidade neste grupo chegou a quase 20%. Pouco tempo depois, um alerta foi emitido pelo FDA em 2008, após revisar 240 relatos de histoplasmose em pacientes tratados com inibidores de TNF- $\alpha$ , a maioria de áreas onde o *H. capsulatum* é endêmico [27]. Em pelo menos 21 dos 240 casos relatados, a histoplasmose não foi diagnosticada até um estágio tardio, levando ao atraso no início da terapia antifúngica apropriada, e 12 desses 21 pacientes morreram. Posteriormente, uma revisão publicada em 2015 de 90 casos tratados em um único centro localizado em área endêmica mostrou uma taxa de mortalidade de noventa dias de 9% em pacientes com alguma forma de imunossupressão com

diagnóstico de histoplasmose, mas com diferença entre usuários de inibidores de TNF- $\alpha$ , pessoas que realizaram transplantes e pessoas vivendo com HIV [29]. Nesse caso, as pessoas em uso de inibidores de TNF- $\alpha$  apresentaram doença mais leve em comparação aos outros dois grupos.

Uma análise do perfil da população em risco de desenvolver histoplasmose durante o tratamento imunossupressor foi publicado por Olson *et al.* em 2011 [27]. Os pesquisadores revisaram os dados de pacientes em tratamento para AR em um grande centro localizado em área endêmica para o fungo durante um período de 10 anos, e que foram diagnosticados com histoplasmose em algum momento. Um total de 26 pacientes foram identificados, a maior parte em terapia combinada com agentes imunossupressores: 15 com inibidores de TNF- $\alpha$ , 16 com metotrexato, 15 com corticosteroides. Embora a maioria dos casos fosse de doença pulmonar, frequentemente o diagnóstico era dificultado pela ausência de sintomas específicos. Os pacientes receberam tratamento com anfotericina B ou itraconazol, e a maioria (14 de 15) teve seu agente inibidor de TNF- $\alpha$  suspenso no momento do diagnóstico. Neste grupo, não houve óbitos atribuídos à histoplasmose.

Esforços recentes que ajudam a entender o risco de infecção por *Histoplasma* na terapia imunossupressora com inibidores de TNF- $\alpha$  incluem uma revisão retrospectiva de 98 casos publicada por Vergidis *et al.* em 2015, a maior análise retrospectiva sobre esse grupo. A revisão examinou os fatores de risco para doença grave em pacientes tratados com inibidores de TNF- $\alpha$  diagnosticados com histoplasmose, incluindo dados de pacientes diagnosticados entre janeiro de 2000 e junho de 2011 em 20 centros médicos dos EUA [19]. Enquanto o agente biológico mais utilizado foi o Infliximabe (67,3%), muitos também faziam uso de metotrexato (44%) ou prednisona (34%). Os pesquisadores descobriram que são preditores independentes de doença grave o uso concomitante de corticosteroides (*odds ratio*, [OR] 3,94, [intervalo de confiança de 95% {95%CI}, 1,06–14,60]) e níveis mais altos de antígeno de *Histoplasma* na urina (OR, 1,14 [95%CI, 1.03–1.25]). Fatores de risco para infecção fúngica e micobacteriana em pacientes em uso de inibidores de TNF- $\alpha$  também foram estudados por Salt *et al.*, em trabalho publicado em 2016, com dados da população de planos de saúde dos EUA durante um período de 3 anos [31]. Um total de 30.772 pacientes foram examinados, dos quais 158 (0,51%) foram diagnosticados com essas infecções e, em seguida, analisados em um modelo de caso-controle. Tuberculose foi diagnosticada em 61% dos casos, seguida de histoplasmose em 60% e infecções por micobactérias não-tuberculosas em 11%. Comparados aos controles (n=474), uma proporção maior de casos recebeu também prednisona (55% versus 37%;  $p < 0,001$ ) e tiveram duas vezes mais chances de necessitar de atenção médica durante o período analisado. No geral, a

incidência de 95 casos de histoplasmose nessa população de 30.772 pacientes foi considerada baixa pelos autores.

Finalmente, Jansson-Knodell *et al.* publicaram em 2021 uma revisão retrospectiva de pacientes com DII recebendo inibidores de TNF- $\alpha$  que desenvolveram histoplasmose em um único centro localizado em área endêmica, entre 1º de janeiro de 2001 a 31 de maio de 2018 [32]. Quarenta e nove pacientes foram identificados, com tempo médio entre o início da terapia com inibidores de TNF- $\alpha$  e o diagnóstico de histoplasmose de 2,1 anos (variação de 0,8-5,2). Nesse conjunto, mesmo que quase 74% apresentassem doença disseminada, ainda assim o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico de infecção por *Histoplasma* foi de 31 dias (variando de 13 a 64). Na maioria dos casos, o diagnóstico foi confirmado por antígenúria ou sorologia, e aqueles com doença disseminada apresentaram antígeno urinário mediano de 10,76 ng/mL, maior em comparação com na doença pulmonar isolada, com mediana de 0,375 ng/mL ( $p < 0,001$ ).

## **2.6. Tratamento da histoplasmose em pacientes em uso de inibidores de TNF- $\alpha$**

Da mesma forma que os centros que realizam tratamento e pesquisa em usuários de inibidores do TNF- $\alpha$  têm adquirido experiência no reconhecimento e diagnóstico da histoplasmose, esforços têm sido feitos para entender as particularidades do tratamento da infecção nesse grupo de pacientes. O tratamento antifúngico é recomendado para todos os pacientes diagnosticados com histoplasmose [66]. Embora a infecção possa ter caráter subagudo ou crônico, a forma disseminada da doença, quando não tratada, tem curso progressivo e é invariavelmente letal [67,68]. O tratamento com anfotericina B lipossomal (3,0 mg/kg diariamente) por 1 a 2 semanas é considerado eficaz para formas moderadamente graves ou graves da doença e é recomendado para todos os adultos hospitalizados por histoplasmose [66,69,70]. Para crianças, a formulação preferida é a anfotericina B desoxicolato (1,0 mg/kg diariamente por 4 a 6 semanas) [66,71]. Itraconazol (200 mg 3 vezes ao dia por 3 dias e depois 200 mg duas vezes ao dia) é o tratamento de escolha para formas leves da doença, bem como para o tratamento de manutenção, que hoje é recomendado para ser continuado por 12 meses [72,73]. O tempo de tratamento de manutenção pode ser estendido de acordo com critérios como grau de imunossupressão, resolução dos achados clínicos ou depuração da antígenúria, e alguns autores consideram a indicação vitalícia, desde que a imunossupressão seja mantida [74].

Esses regimes de terapia antifúngica foram considerados altamente eficazes por Hage *et al.* em uma revisão de 2010, e foram recomendados para pessoas em uso de inibidores de TNF-

$\alpha$  com diagnóstico ou forte suspeita clínica de histoplasmose [26]. Séries de casos demonstram que esse tratamento tem sido amplamente utilizado para infecção por *Histoplasma* nesses pacientes, sendo raros os relatos de refratariedade à terapia, e sendo os desfechos desfavoráveis geralmente atribuídos ao atraso no diagnóstico [17,19,20,27]. Na revisão retrospectiva multicêntrica de 98 pacientes diagnosticados com histoplasmose por Vergidis *et al.*, o tratamento inicial de 47,4% dos pacientes foi anfotericina B por uma duração média de 2 semanas (intervalo de 2 dias a 20 semanas) [19]. Cinquenta de 97 (51,5%) pacientes foram inicialmente tratados com azólico, sendo 91 com itraconazol e 5 com voriconazol. O tratamento de manutenção com azólico foi administrado a todos os pacientes, por uma média de 12 meses (intervalo de 2 a 43 meses) [19]. Nesse estudo, os resultados foram em sua maioria favoráveis, com taxa de mortalidade de 3,2%, e com 9 pacientes desenvolvendo síndrome inflamatória de reconstituição imune (IRIS) durante a terapia, dos quais 3 necessitaram de tratamento com esteroides.

A manutenção da terapia imunossupressora após o diagnóstico de histoplasmose é outro ponto que permanece em discussão. A recomendação tradicional tem sido descontinuar o inibidor de TNF- $\alpha$  após o diagnóstico, o que foi sugerido no alerta do FDA de 2008 e pelos fabricantes [26]. Discute-se se o risco de IRIS seria maior naqueles pacientes que descontinuam o imunobiológico após o diagnóstico, porém, no caso de IRIS, a recomendação costuma ser apenas a corticoterapia [26]. A reintrodução do imunobiológico após o período de manutenção com itraconazol, ou mesmo durante esse tratamento, é outra questão que vem sendo revisada, com estudos recentes apontando para a segurança na reintrodução do medicamento.

Na revisão de 98 casos de 2015, a terapia inibitória do TNF- $\alpha$  foi inicialmente descontinuada em 96,9% dos casos e mantida nos 3 pacientes restantes [19]. Posteriormente, a terapia biológica foi retomada em 33,8% dos pacientes (25/74 dos quais havia dados disponíveis) em um tempo médio de 12 meses (intervalo de 1-69 meses) após o diagnóstico de histoplasmose. Desse grupo, um paciente apresentou recidiva da doença 39 meses após a retomada do inibidor de TNF- $\alpha$  e faleceu. Ao final do seguimento, com mediana de 32 meses, 94,7% (90/95) dos pacientes não apresentavam sinais clínicos ou aumento de antigenúria compatível com doença recorrente. Três (3,2%) pacientes apresentaram doença recorrente, dos quais 2 haviam reiniciado os inibidores de TNF- $\alpha$  e 1 deles morreu. Em revisão publicada em 2021 sobre 49 pacientes com DII, Jansson-Knodell *et al.* relataram que a anfotericina B lipossomal foi a terapia inicial após o diagnóstico de histoplasmose em 34,7% dos pacientes, com duração média de tratamento de 13 dias [32]. Todos os pacientes receberam itraconazol como terapia de manutenção por um tempo médio de 31,3 semanas (intervalo de 0,29 a 153,4

semanas), com 18,2% permanecendo em supressão de longo prazo. Nesse grupo, 9 pacientes continuaram usando inibidor de TNF- $\alpha$  após o diagnóstico, enquanto 10 pacientes reiniciaram a terapia em um tempo mediano de 39,3 semanas após o diagnóstico. Não houve recorrências documentadas de histoplasmose durante o uso de inibidores de TNF- $\alpha$ . A taxa de mortalidade foi de 7,3%, sendo 2 das 3 mortes ocorridas durante o seguimento atribuíveis à histoplasmose.

### **2.7. Terapia inibitória do TNF- $\alpha$ e risco de histoplasmose – questionamentos atuais**

Primeiramente, estimativas precisas do real escopo da histoplasmose mesmo na população geral são muitas vezes difíceis de realizar. Nos modelos mais clássicos, obtidos em estudos epidemiológicos que consideram a positividade nos testes cutâneos de histoplasmina, estima-se que nos Estados Unidos entre 60% e 90% das pessoas que vivem em áreas ao redor dos vales dos rios Ohio e Mississippi foram expostas ao fungo em algum momento de suas vidas [75,76]. Em 2011, a incidência de histoplasmose em adultos com 65 anos ou mais nos EUA foi calculada em 3,4 casos por 100.000 pessoas, com as taxas mais altas nas áreas endêmicas do Centro-Oeste, com uma estimativa de 6,1 casos por 100.000 habitantes [77]. Em outro estudo, os dados de vigilância de histoplasmose de 12 estados para os anos de 2011 a 2014 foram usados para calcular as taxas anuais de incidência de histoplasmose variando de 0 a 4,3 casos por 100.000 habitantes, com as taxas mais altas em estados endêmicos de *Histoplasma* [78]. Taxas muito mais altas são observadas em pessoas vivendo com HIV, especialmente em países em desenvolvimento. Em 2012, a incidência estimada de histoplasmose foi de 1,48 casos por 100 pessoas vivendo com HIV na América Latina [79].

Continuando, foi abordado que as estimativas de histoplasmose em usuários de inibidores de TNF- $\alpha$  costumam variar de uma incidência de 16,7 a 18,78 casos por 100.000 pessoas tratadas com Infliximabe e cerca de 2,7 casos por 100.000 pessoas tratadas com Etanercepte [22,24]. Ou seja, não há apenas uma incidência maior em relação à população em geral, comparada aos estudos clássicos, mas também se percebe uma diferença importante em relação às duas drogas citadas, apontando para maior risco com Infliximabe. No entanto, esses parâmetros ainda são muito inferiores aos observados em pacientes com AIDS. Da mesma forma, os números ainda são muito inferiores aos observados na tuberculose, que continua sendo a complicação mais frequente em usuários de drogas inibidoras do TNF- $\alpha$ , com uma incidência de 53,81 casos por 100.000 pacientes tratados com Infliximabe [64,80].

A diferença na incidência de histoplasmose observada em terapias com anticorpos monoclonais do tipo anti-TNF (como Infliximabe e Adalimumabe) em comparação com

aquelas que usam Etanercepte, um receptor solúvel de TNF, é discutida, e provavelmente se deve à diferença nas estruturas moleculares e nos mecanismos de ação [22,26]. Os anticorpos monoclonais têm uma gama mais ampla de efeitos, inibindo TNF solúvel e associado a células, incluindo suas formas monoméricas e triméricas [64]. Em contraste, o Etanercepte bloqueia apenas a forma trimérica solúvel [64]. Além disso, os anticorpos monoclonais induzem apoptose de monócitos e células T, enquanto o Etanercepte tem um efeito anti-apoptótico [34,81]. Outro efeito, não observado no Etanercepte, é que o Infliximabe e o Adalimumabe induzem a lise mediada pelo complemento de células que expressam receptores de superfície do TNF- $\alpha$ , incluindo monócitos [81,82]. Diferenças farmacocinéticas adicionais incluem os altos níveis de Infliximabe observados logo após as infusões intravenosas, enquanto os níveis sanguíneos de Etanercepte são baixos e variam pouco com a dosagem [82].

Uma outra questão que permanece em debate é se a patogênese da histoplasmose em pessoas em uso de inibidores de TNF- $\alpha$  está relacionada à reativação de doença latente ou é decorrente de uma nova infecção. Embora a reativação de lesões latentes seja um mecanismo observado em pacientes diagnosticados com tuberculose após o início de inibidores de TNF- $\alpha$ , este pode não ser o principal mecanismo no caso da doença fúngica [22,23]. Por um lado, a reativação da histoplasmose latente já foi objeto de relatos de casos e é sugerida pelo curto tempo entre o início da terapia inibitória do TNF- $\alpha$  e o diagnóstico de histoplasmose em algumas séries - como a de Lee *et al.* em 2002 [20,61,63]. No entanto, argumenta-se que uma incidência muito maior de histoplasmose seria esperada em usuários dessas terapias nas áreas endêmicas se a reativação fosse o mecanismo principal. Tal perspectiva leva em conta a diferença observada no número de pessoas com reação positiva no teste cutâneo de histoplasmina, marcador de contato prévio com *Histoplasma* que pode atingir até 90% dos adultos em áreas endêmicas, e o aumento desproporcional da incidência de histoplasmose em pacientes após o início da terapia inibitória do TNF- $\alpha$ , estimada em pouco mais de 18 casos por 100.000 usuários de Infliximabe, ou seja, uma incidência de 0,00018% dos adultos [75,80].

Uma publicação que poderia contestar reativação como o principal mecanismo após a imunossupressão é uma revisão retrospectiva de prontuários de 586 pacientes submetidos a transplante de órgão sólido ou medula óssea de janeiro de 1994 a dezembro de 1996 em Indiana/EUA, uma área endêmica onde 50 a 80% da população tem evidência de infecção prévia por *Histoplasma* conforme testes cutâneos [83]. Apesar de 18% dos pacientes apresentarem testes sorológicos positivos para histoplasmose pré-transplante e 4% apresentarem radiografias de tórax consistentes com doença granulomatosa prévia, nenhum desenvolveu histoplasmose durante um período de acompanhamento de 3 anos.

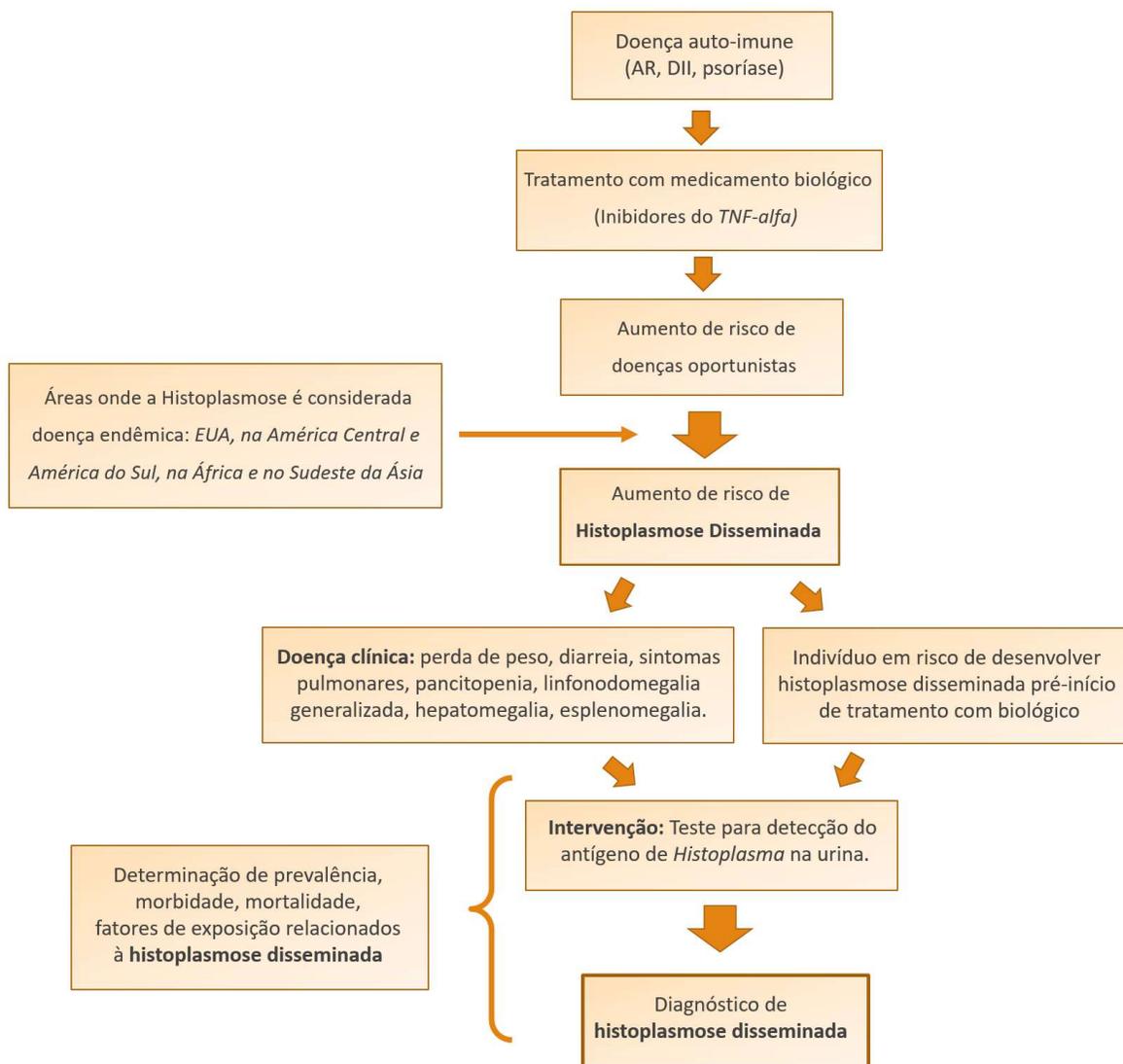
É possível que o bloqueio do TNF- $\alpha$  não seja suficiente para a reativação de organismos presentes em lesões anteriores, mas que seja muito significativo em uma nova exposição a conídios inalados, devido ao impacto na imunidade celular. O TNF- $\alpha$  é um dos mais importantes mediadores da reação inflamatória nos organismos, principalmente em processos agudos de resposta imune a microrganismos patogênicos, incluindo os fungos [33,34]. Os efeitos locais do TNF- $\alpha$  incluem o recrutamento de neutrófilos e macrófagos para o local da infecção, por meio de quimiosinalização e estímulo à produção de moléculas de adesão no endotélio vascular, entre outras funções [54,84]. Já os efeitos sistêmicos incluem participação na sinalização hipotalâmica para a geração da febre, produção de proteínas de fase aguda pelo fígado e promoção da diferenciação celular na medula óssea [54,85]. Os efeitos desse bloqueio do TNF- $\alpha$  para o controle de infecções agudas ou latentes ainda estão sendo compreendidos.

Considerando os dados apontando que uma maior vulnerabilidade a uma nova exposição parece ser um mecanismo mais importante do que a reativação, a necessidade de triagem para histoplasmose antes de iniciar a terapia inibitória do TNF- $\alpha$  também é incerta. Naqueles que estão iniciando a terapia, os especialistas recomendam a investigação de sintomas de histoplasmose ativa ou recente, bem como a discussão sobre atividades com potencial risco de exposição ao fungo após o início da medicação [26]. Outros recomendam que pacientes com suspeita de histoplasmose nos 2 anos anteriores ao início da terapia com inibidores de TNF- $\alpha$  sejam submetidos a radiografia de tórax [26]. Por outro lado, a triagem de rotina com sorologia ou antígeno de *Histoplasma* geralmente não é recomendada [26,66]. No estudo envolvendo pacientes submetidos a transplante de órgão sólido ou medula óssea, evidência sorológica ou radiográfica de infecção prévia por histoplasmose não foi preditiva de doença na população imunocomprometida [83]. Uma vez que o risco de reativação da histoplasmose não está estabelecido, a terapia profilática ou preventiva também não foi recomendada.

Até este momento, concluímos que os potentes efeitos imunomoduladores das terapias biológicas revolucionaram o tratamento de doenças autoimunes em diversas áreas desde o final da década de 1990, porém, apresentam risco potencial de complicações infecciosas em seus usuários. Naqueles em uso de inibidores de TNF- $\alpha$ , a histoplasmose tem ganhado notoriedade como a principal infecção fúngica que pode impactar o tratamento desses pacientes. Pessoas em uso de drogas inibidoras do TNF- $\alpha$  têm maior incidência de histoplasmose em comparação com a população em geral, ainda assim, a doença é frequentemente complicada pelo diagnóstico tardio, pois pode apresentar sintomas inespecíficos e a identificação do patógeno pode ser desafiadora sem métodos adequados. Dentre eles, o antígeno urinário para *Histoplasma* tem ganhado destaque como ferramenta útil para esse diagnóstico. O papel da triagem ou terapia

antifúngica pré-início dos biológicos ainda é incerto e, até o momento, não tem sido recomendada, pois não foi observado impacto significativo da reativação do *Histoplasma* latente em usuários de biológicos até o momento. Dados clínicos e epidemiológicos sugerem que o aumento da vulnerabilidade a novas exposições seria o mecanismo mais importante para a doença, mas esse é um entendimento em andamento. Esperamos que nosso trabalho para agregar informações para esse campo em construção.

### 3. MARCO CONCEITUAL



**Figura 2.** Marco conceitual da proposta deste estudo, partindo dos indivíduos sob risco (coorte em análise), destacando-se a exposição ambiental à qual esses pacientes podem estar expostos, e o consequente aumento de risco da doença negligenciada em investigação: Histoplasmose Disseminada. A doença em investigação foi pesquisada em pacientes assintomáticos como *screening* em paciente antes do início dos medicamentos da classe dos inibidores do TNF- $\alpha$ . Também foram realizados testes em pacientes sintomáticos que já estavam em uso da medicação. A pesquisa de antígeno foi considerada como a principal intervenção do estudo (diagnóstico de infecção por *Histoplasma* a partir do antígeno urinário) com posterior coleta de dados e seguimento dos pacientes com teste positivo. À esquerda do colchete, destacam-se os principais objetivos do trabalho.

**Legenda** - AR: artrite reumatoide. DII: doença inflamatória intestinal. TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral - alfa.

### 3.1. Detalhamento do Marco Conceitual

Pacientes com doenças autoimunes (como artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal, psoríase, etc) refratárias às terapias menos imunossupressoras de primeira linha, podem necessitar de tratamento com medicamento imunobiológico para controle de sua doença. Dentre as terapias biológicas mais usadas para tais condições, destaca-se o uso de inibidores do TNF-alfa. Embora o efeito imunossupressor dessa classe seja desejado para controle da doença autoimune, tal imunomodulação predispõe o paciente à ocorrência de doenças infecciosas oportunistas.

Em áreas onde a Histoplasmose é considerada uma doença endêmica (como EUA, América Central, América do Sul, África, Sudeste da Ásia) destaca-se o risco da ocorrência desta patologia, incluindo em sua forma disseminada, entre os usuários dos medicamentos biológicos. A Histoplasmose é considerada uma doença infectocontagiosa negligenciada, e pode ocasionar um quadro clínico que cursa com sintomas sistêmicos (febre, perda de peso, linfonodomegalia disseminada), além de outras manifestações que incluem diarreia, quadro pulmonar, hepatomegalia, esplenomegalia.

Este estudo propôs-se a abordar indivíduos assintomáticos com plano de iniciar medicamento biológico, como ferramenta de *screening*, com seguimento para avaliar a ocorrência de Histoplasmose Disseminada como complicação do tratamento. A abordagem proposta inclui teste para detecção de antígeno de *Histoplasma* em amostra de urina dos pacientes que forem triados e fornecerem consentimento a partir da assinatura do TCLE. Testes adicionais foram realizados em indivíduos já em uso de medicamento biológico do tipo inibidor do TNF- $\alpha$  que se apresentaram sintomáticos à emergência dos centros participantes, durante o período do estudo.

Os pacientes triados com teste positivo foram avaliados quanto às suas variáveis clínicas, conforme consta na ficha de coleta de dados. O seguimento será realizado com informações do prontuário, em 30 e 180 dias. Na avaliação de seguimento serão coletados dados do desfecho clínico (incluindo mortalidade). Através deste modelo operacional, este estudo procurou avaliar a prevalência, fatores de risco e prognósticos para Histoplasmose Disseminada em pessoas utilizando medicamentos biológicos.

#### 4. JUSTIFICATIVA

##### **Produtos esperados como resultado da execução do projeto**

A partir da execução do projeto, é esperada a obtenção de informações importantes sobre o impacto desta infecção fúngica endêmica em uma população com imunossupressão não causada pelo HIV (usuários de biológicos) no Sul do Brasil, a saber:

- i. Prevalência de histoplasmose disseminada em pacientes candidatos ao uso de biológicos;
- ii. Prevalência de histoplasmose em usuários de inibidores de TNF-alfa com complicações infecciosas;
- iii. Fatores de risco para a ocorrência de histoplasmose nessa população;
- iv. Papel da ferramenta diagnóstica avaliada (pesquisa de antígeno de *Histoplasma capsulatum*) em pacientes não-HIV com suspeita clínica;
- v. Identificação de fatores prognósticos, nesses pacientes, para o desenvolvimento de formas graves e mortalidade;
- vi. Caracterização de oportunidades para medidas de prevenção a estas doenças, em pessoas usuárias de biológicos.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo primário**

i. Determinar a prevalência e fatores de risco para histoplasmose disseminada em pacientes não-HIV em tratamento com medicações imunobiológicas inibidoras do TNF-alfa.

### **5.2. Objetivos secundários**

i. Determinar morbidade e a mortalidade de pacientes não-HIV com histoplasmose;

ii. Documentar fatores de exposição associados a histoplasmose;

iii. Determinar variáveis clínicas que possam predizer a ocorrência de histoplasmose disseminada, assim como fatores prognósticos dessa doença;

iv. Relacionar possíveis outros diagnósticos infecciosos estabelecidos com a ocorrência da doença fúngica;

v. Determinar risco para histoplasmose disseminada conforme o imunobiológico utilizado e doença em tratamento;

vi. Promover através do conhecimento fatores de risco, prevalência, evolução e fatores prognósticos dessa doença fúngicas, ações de educação e prevenção em pessoas recebendo terapias com biológicos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization (WHO) Report. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Oct 25, 2022. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>.

2. Kauffman CA. Histoplasmosis. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, eds. *Clinical Mycology*. Oxford, UK: Oxford University Press; 2003:285-298

3. Kauffman CA. Histoplasmosis. *Clin Chest Med*. 2009 Jun;30(2):217-25, v.

4. Wheat LJ, Connolly-Stringfield PA, Baker RL, Curfman MF, Eads ME, Israel KS, Norris SA, Webb DH, Zeckel ML. Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical findings, diagnosis and treatment, and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 1990; 69: 361–374.

5. Couppie P, Sobesky M, Aznar C, Bichat S, Clyti E, Bissuel F, El Guedj M, Alvarez F, Demar M, Louvel D, Pradinaud R, Carme B. Histoplasmosis and acquired immunodeficiency syndrome: a study of prognostic factors. *Clin Infect Dis*. 2004; 38:134–138.

6. Ferreira, MS et al. Histoplasmosis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(2):192-198.

7. Gao GH, Li J, Xie HW, Lü Z. Therapeutic effect of infliximab on moderate and severe active rheumatoid arthritis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2010;30:724–726. (In Chinese). [PubMed] [Google Scholar]

8. Mathias SD, Colwell HH, Miller DP, et al. Health-related quality of life and functional status of patients with rheumatoid arthritis randomly assigned to receive etanercept or placebo. *Clin Ther*. 2000;22:128–139. [PubMed] [Google Scholar]

9. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum*. 2006;54:26–37.

10. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359:1541.

11. Present DH, Rutgeerts P, Targan S, et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 1999; 340:1398.

12. Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, et al. Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity* 1995; 2:561.

13. Huffnagle GB, Toews GB, Burdick MD, et al. Afferent phase production of TNF-alpha is required for the development of protective T cell immunity to *Cryptococcus neoformans*. *J Immunol* 1996; 157:4529.

14. Marino MW, Dunn A, Grail D, et al. Characterization of tumor necrosis factor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94:8093.

15. Vallabhaneni S, Chiller TM. Fungal Infections and New Biologic Therapies. *Curr Rheumatol Rep*. 2016 May;18(5):29.

16. Tsiodras S, Samonis G, Boumpas DT, Kontoyiannis DP. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. *Mayo Clin Proc*. 2008 Feb;83(2):181-94.

**17. Chu JH, Feudtner C, Heydon K, Walsh TJ, Zaoutis TE. Hospitalizations for endemic mycoses: a population-based national study. *Clin Infect Dis*. 2006 Mar 15;42(6):822-5.**

18. Falci DR, Monteiro AA, Braz Caurio CF, Magalhães TCO, Xavier MO, Basso RP, Melo M, Schwarzbald AV, Ferreira PRA, Vidal JE, Marochi JP, Godoy CSM, Soares RBA, Paste A, Bay MB, Pereira-Chiccola VL, Damasceno LS, Leitão TDMJS, Pasqualotto AC. Histoplasmosis, An Underdiagnosed Disease Affecting People Living With HIV/AIDS in Brazil: Results of a Multicenter Prospective Cohort Study Using Both Classical Mycology Tests and Histoplasma Urine Antigen Detection. *Open Forum Infect Dis*. 2019 Apr 13;6(4):ofz073.

**19. Vergidis P, Avery RK, Wheat LJ, Dotson JL, Assi MA, Antoun SA, Hamoud KA, Burdette SD, Freifeld AG, McKinsey DS, Money ME, Myint T, Andes DR, Hoey CA, Kaul DA, Dickter JK, Liebers DE, Miller RA, Muth WE, Prakash V, Steiner FT, Walker RC, Hage CA. Histoplasmosis complicating tumor necrosis factor- $\alpha$  blocker therapy: a retrospective analysis of 98 cases. *Clin Infect Dis*. 2015 Aug 1;61(3):409-17.**

**20. Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, Edwards ET, Schwieterman WD, Siegel JN, Wise RP, Brown SL, Udall JN Jr, Braun MM. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum*. 2002 Oct;46(10):2565-70.**

**21. Wood KL, Hage CA, Knox KS, Kleiman MB, Sannuti A, Day RB, Wheat LJ, Twigg HL 3rd. Histoplasmosis after treatment with anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 May 1;167(9):1279-82.**

22. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO. Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis*. 2004 May 1;38(9):1261-5. doi: 10.1086/383317. Epub 2004 Apr 15.
23. Deepe Jr. GS, Wallis RS. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Inhibitors and Granulomatous Infectious. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 2006;3(2):295–300.
24. Smith JA, Kauffman CA. Endemic fungal infections in patients receiving tumour necrosis factor-alpha inhibitor therapy. *Drugs*. 2009 Jul 30;69(11):1403-15.
25. McCroskery PA, Verma A, Bloesch C. Identifying Clinical Features of Disseminated Histoplasmosis in Patients Receiving TNF Inhibitors. *Arthritis and Rheumatism*. 2009 Oct; 60:999.
26. Hage CA, Bowyer S, Tarvin SE, Helper D, Kleiman MB, Wheat LJ. Recognition, diagnosis, and treatment of histoplasmosis complicating tumor necrosis factor blocker therapy. *Clin Infect Dis*. 2010 Jan 1;50(1):85-92.
27. Olson TC, Bongartz T, Crowson CS, Roberts GD, Orenstein R, Matteson EL. Histoplasmosis infection in patients with rheumatoid arthritis, 1998-2009. *BMC Infect Dis*. 2011 May 23;11:145.
28. Ordonez ME, Farraye FA, Di Palma JA. Endemic fungal infections in inflammatory bowel disease associated with anti-TNF antibody therapy. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Oct;19(11):2490-500.
29. Luckett K, Dummer JS, Miller G, Hester S, Thomas L. Histoplasmosis in Patients With Cell-Mediated Immunodeficiency: Human Immunodeficiency Virus Infection, Organ Transplantation, and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Inhibition. *Open Forum Infect Dis*. 2015 Feb 20;2(1):ofu116.
30. Bogorodskaya M, El Chakhtoura NG, Salata RA. Disseminated histoplasmosis in patients receiving tumor necrosis factor- $\alpha$ inhibitors: A case series and review. *Infect Dis Clin Pract*. 2016;24(5):261.
31. Salt E, Wiggins AT, Rayens MK, Huaman MA, Mannino D, Schwieterman P, Merkley SA, Jones AR, Crofford LJ. Risk Factors for Targeted Fungal and Mycobacterial Infections in Patients Taking Tumor Necrosis Factor Inhibitors. *Arthritis Rheumatol*. 2016 Mar;68(3):597-603.
32. Jansson-Knodell CL, Harris CE, Loftus EV Jr, Walker RC,ENZLER MJ, Virk A. Histoplasmosis in Inflammatory Bowel Disease with Tumor Necrosis Factor-Alpha Inhibitors: Safe to Continue Biologics? *Dig Dis Sci*. 2021 Jan;66(1):190-198.

33. Schluter D, Deckert M. The divergent role of tumor necrosis factor receptors in infectious diseases. *Microbes Infect* 2000;2:1285–92
34. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) in Autoimmune Disease and Current TNF- $\alpha$  Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 8;22(5):2719.
35. Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell*. 1989 Mar 10;56(5):731-40.
36. Smith JG, Magee DM, Williams DM, Graybill JR. Tumor necrosis factor-alpha plays a role in host defense against *Histoplasma capsulatum*. *J Infect Dis* 1990;162:1349–53.
37. Wu-Hsieh BA, Lee G-S, Franco M, Hofman FM. Early activation of splenic macrophages by tumor necrosis factor alpha is important in determining the outcome of experimental histoplasmosis in mice. *Infect Immun* 1992;60:4230–8
38. Zhou P, Miller G, Seder RA. Factors involved in regulating primary and secondary immunity to infection with *Histoplasma capsulatum*: TNF- $\alpha$  plays a critical role in maintaining secondary immunity in the absence of IFN-gamma. *J Immunol* 1998;160:1359–1368.
39. Allendoerfer R, Deepe GS Jr. Blockade of endogenous TNF- $\alpha$  exacerbates primary and secondary pulmonary histoplasmosis by differential mechanisms. *J Immunol* 1998;160:6072–6082.
40. Allendorfer R, Brunner GD, Deepe GS Jr. Complex requirements for nascent and memory immunity in pulmonary histoplasmosis. *J Immunol* 1999;162:7389–7396.
41. Allendoerfer R, Deepe GS Jr. Regulation of infection with *Histoplasma capsulatum* by TNFR1 and -2. *J Immunol* 2000; 165:2657–64.
42. Newman SL. Cell-mediated immunity to *Histoplasma capsulatum*. *Semin Respir Infect* 2001;16:102–108.
43. Deepe GS Jr. Modulation of infection with *Histoplasma capsulatum* by inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  activity. *Clin Infect Dis* 2005; 41(Suppl 3):S204–7
44. Deepe GS Jr, Gibbons RS. T cells require tumor necrosis factor- $\alpha$  to provide protective immunity in mice infected with *Histoplasma capsulatum*. *J Infect Dis* 2006; 193:322–30.
45. Flesch IE, Kaufmann SH. Activation of tuberculostatic macrophage functions by gamma interferon, interleukin-4, and tumor necrosis factor. *Infect Immun*. 1990 Aug;58(8):2675-7.

46. Keane J, Remold HG, Kornfeld H. Virulent *Mycobacterium tuberculosis* strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. *J Immunol*. 2000 Feb 15;164(4):2016-20.
47. Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, Triebold KJ, Pfeffer K, Lowenstein CJ, Schreiber R, Mak TW, Bloom BR. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity*. 1995 Jun;2(6):561-72.
48. Mittal J, Ponce MG, Gendlina I, Nosanchuk JD. *Histoplasma Capsulatum*: Mechanisms for Pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2019;422:157-191.
49. Darling, S. T. A protozoan general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necroses in the liver, spleen, and lymph nodes. *JAMA*. 1906; 46:1283-1285.
50. Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Jan;20(1):115-32.
51. Deepe GS Jr, Gibbons RS, Smulian AG. *Histoplasma capsulatum* manifests preferential invasion of phagocytic subpopulations in murine lungs. *J Leukoc Biol*. 2008 Sep;84(3):669-78.
52. Allen HL, Deepe GS Jr. B cells and CD4-CD8- T cells are key regulators of the severity of reactivation histoplasmosis. *J Immunol*. 2006 Aug 1;177(3):1763-71.
53. Heninger E, Hogan LH, Karman J, Macvilay S, Hill B, Woods JP, Sandor M. Characterization of the *Histoplasma capsulatum*-induced granuloma. *J Immunol*. 2006 Sep 1;177(5):3303-13.
54. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol* 2002; 168:4620–7.
55. Mulligan MS, Vaporciyan AA, Miyasaka M, Tamatani T, Ward PA. Tumor necrosis factor  $\alpha$  regulates in vivo intrapulmonary expression of ICAM-1. *Am J Pathol* 1993; 142:1739–49.
56. Bean AG, Roach DR, Briscoe H, et al. Structural deficiencies in granuloma formation in TNF gene-targeted mice underlie the heightened susceptibility to aerosol *Mycobacterium tuberculosis* infection, which is not compensated for by lymphotoxin. *J Immunol* 1999;162:3504-11.
57. Flesch IE, Kaufmann SH. Mechanisms involved in mycobacterial growth inhibition by gamma interferon-activated bone marrow macrophages: role of reactive nitrogen intermediates. *Infect Immun* 1991; 59:3213-8.

58. Turner J, Frank AA, Brooks JV, Marietta PM, Orme IM. Pentoxifylline treatment of mice with chronic pulmonary tuberculosis accelerates the development of destructive pathology. *Immunology* 2001; 102:248-53.

59. Mohan VP, Scanga CA, Yu K, et al. Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: possible role for limiting pathology. *Infect Immun* 2001; 69:1847–55.

60. Ehlers S, Kutsch S, Ehlers EM, Benini J, Pfeffer K. Lethal granuloma disintegration in mycobacteria-infected TNFRp55/ mice is dependent on T cells and IL-12. *J Immunol* 2000; 165:483–92.

61. Nakelchik M, Mangino JE. Reactivation of histoplasmosis after treatment with infliximab [letter]. *Am J Med* 2002; 112:78.

62. Zhang Z, Correa H, Begue RE. Tuberculosis and treatment with infliximab [letter]. *N Engl J Med* 2002; 346:624.

63. Jain VV, Evans T, Peterson MW. Reactivation histoplasmosis after treatment with anti-tumor necrosis factor alpha in a patient from a nonendemic area. *Respir Med.* 2006; Jul;100(7):1291-3.

64. Wallis RS, Broder M, Wong J, Lee A, Hoq L. Reactivation of latent granulomatous infections by infliximab. *Clin Infect Dis.* 2005 Aug 1;41 Suppl 3:S194-8.

65. Winthrop KL, Yamashita S, Beekmann SE, Polgreen PM. Mycobacterial and other serious infections in patients receiving anti-tumor necrosis factor and other newly approved biologic therapies: case finding through the Emerging Infections Network. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1738–40.

66. Wheat LJ, Freifeld AG, Kleiman MB, Baddley JW, McKinsey DS, Loyd JE, Kauffman CA; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2007 Oct 1;45(7):807-25.

67. Furcolow ML. Comparison of treated and untreated severe histoplasmosis. *JAMA.* 1963;183:121-7.

68. Goodwin RA Jr, Shapiro JL, Thurman GH, Thurman SS, Des Prez RM. Disseminated histoplasmosis: clinical and pathologic correlations. *Medicine (Baltimore).* 1980 Jan;59(1):1-33.

69. Sarosi GA, Voth DW, Dahl BA, Doto IL, Tosh FE. Disseminated histoplasmosis: results of long-term follow-up. A center for disease control cooperative mycoses study. *Ann Intern Med.* 1971 Oct;75(4):511-6.

70. Johnson PC, Wheat LJ, Cloud GA, Goldman M, Lancaster D, Bamberger DM, Powderly WG, Hafner R, Kauffman CA, Dismukes WE; U.S. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. *Ann Intern Med.* 2002 Jul 16;137(2):105-9.

71. Odio CM, Navarrete M, Carrillo JM, Mora L, Carranza A. Disseminated histoplasmosis in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 1999 Dec;18(12):1065-8.

72. Dismukes WE, Bradsher RW Jr, Cloud GC, Kauffman CA, Chapman SW, George RB, Stevens DA, Girard WM, Saag MS, Bowles-Patton C. Itraconazole therapy for blastomycosis and histoplasmosis. NIAID Mycoses Study Group. *Am J Med.* 1992 Nov;93(5):489-97.

73. Wheat J, Hafner R, Korzun AH, Limjoco MT, Spencer P, Larsen RA, Hecht FM, Powderly W. Itraconazole treatment of disseminated histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. AIDS Clinical Trial Group. *Am J Med.* 1995 Apr;98(4):336-42.

74. Goldman M, Zackin R, Fichtenbaum CJ, Skiest DJ, Koletar SL, Hafner R, Wheat LJ, Nyangweso PM, Yiannoutsos CT, Schnizlein-Bick CT, Owens S, Aberg JA; AIDS Clinical Trials Group A5038 Study Group. Safety of discontinuation of maintenance therapy for disseminated histoplasmosis after immunologic response to antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2004 May 15;38(10):1485-9.

75. Manos NE, Ferebee SH, Kerschbaum WF. Geographic variation in the prevalence of histoplasmin sensitivity external icon. *Dis Chest.* 1956 Jun;29(6):649-68.

76. Edwards, L. B., S. A. Acquaviva, V. T. Livesay, F. W. Cross, and C. E. Palmer. 1969. An atlas of sensitivity to tuberculin, PPD-B, and histoplasmin in the United States. *Annu. Rev. Respir. Dis.* 99:1-18.

77. Baddley JW, Winthrop KL, Patkar NM, Delzell E, Beukelman T, Xie F, et al. Geographic distribution of endemic fungal infections among older persons, United States external icon. *Emerg Infect Dis.* 2011 Sep;17(9):1664-9.

78. Armstrong PA, Jackson BR, Haselow D, Fields V, Ireland M, Austin C, et al. Multistate epidemiology of histoplasmosis, United States, 2011-2014. *Emerg Infect Dis.* 2018 Mar;24(3):425-31.

79. Adenis AA, Valdes A, Cropet C, McCotter OZ, Derado G, Couppie P, Chiller T, Nacher M. Burden of HIV-associated histoplasmosis compared with tuberculosis in Latin America: a modelling study. *Lancet Infect Dis.* 2018 Oct;18(10):1150-1159.

80. Harris J, Keane J. How tumour necrosis factor blockers interfere with tuberculosis immunity. *Clin Exp Immunol*. 2010 Jul 1;161(1):1-9.

81. Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H, Tamimoto Y, Kimoto Y, Uchino A, To K, Harashima S, Hatta N, Harada M. Mechanisms for cytotoxic effects of anti-tumor necrosis factor agents on transmembrane tumor necrosis factor alpha-expressing cells: comparison among infliximab, etanercept, and adalimumab. *Arthritis Rheum*. 2008 May;58(5):1248-57.

82. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghayeb J. Chimeric anti-TNF- $\alpha$  monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF- $\alpha$  and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995; 7:251-9.

83. Vail GM, Young RS, Wheat LJ, Filo RS, Cornetta K, Goldman M. Incidence of histoplasmosis following allogeneic bone marrow transplant or solid organ transplant in a hyperendemic area. *Transpl Infect Dis*. 2002 Sep;4(3):148-51.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças negligenciadas representam um importante agravo de saúde no Brasil e mundialmente. Em especial, as micoses endêmicas representam um grupo de doenças para as quais as opções diagnósticas e terapêuticas seguem consideravelmente restritas, especialmente quando comparamos a áreas da Medicina que recebem maior aporte financeiro. Mesmo avanços como o desenvolvimento de testes de diagnóstico molecular para a Histoplasmose, apesar de muito animadores, seguem muito restritos, com maior emprego em protocolos de pesquisa ou disponíveis em estratégias ainda pontuais, como no Circuito Rápido da AIDS avançada, em implementação pelo Ministério da Saúde desde 2022.

Creio que este trabalho pôde ajudar a demonstrar que o dano da histoplasmose em pacientes imunossuprimidos talvez seja maior do que se considera. Este já é um cenário que tem sido cada vez mais reiterado no cuidado das pessoas que vivem com HIV, em que o entendimento cresce no sentido de que naqueles com imunossupressão grave a doença fúngica talvez cause tanta morbimortalidade quanto à própria tuberculose. De maneira similar, os resultados de nossa Revisão Sistemática e Metanálise apontam que a importância do impacto da histoplasmose em pacientes com outras formas de imunossupressão, como a medicamentosa provocada por tratamentos imunobiológicos, talvez esteja subestimado. Considerando-se o crescente número de pacientes que tem recebido esses tratamentos em serviços de Reumatologia, Gastrenterologia e Dermatologia, tal figura é preocupante.

Esperamos que nosso artigo original tenha agregado evidências para um campo onde as questões são inúmeras e os dados objetivos, ainda poucos. Há dúvidas quanto qual é a prevalência da infecção assintomática pelo *Histoplasma capsulatum* na população imunossuprimida, e qual o risco de adoecimento naqueles que a apresentam e vão passar por um tratamento imunossupressor, qual o impacto do rastreamento antes deste tratamento, e se há existência de benefício em terapias preemptivas, entre outras questões. Mesmo que não tenhamos chegado a uma resposta definitiva para tais perguntas, assumo que nossa pesquisa contribuiu para a construção do entendimento destas questões em um cenário futuro.

## 10. PERSPECTIVAS FUTURAS

Nosso trabalho produziu dados interessantes sobre a prevalência da infecção por *Histoplasma capsulatum* em pacientes tratados com medicamentos imunobiológicos, como os agentes inibidores do TNF- $\alpha$ . Em nossa Metanálise, foi demonstrado que o diagnóstico das formas clínicas de histoplasmose, como a doença disseminada, talvez seja mais frequente nessa população do que o considerado na taxa de incidência classicamente referenciada. Entretanto, nossa revisão agrupou estudos com desenhos e finalidades diferentes, com limitações inerentes à estratégia. Há uma demanda evidente por um estudo populacional em que identificar a prevalência da histoplasmose em usuários de imunobiológicos seja o desfecho principal.

Da mesma forma, nosso estudo de coorte produziu achados relevantes, que apesar de capazes de agregar evidências às questões em aberto esplanadas nas Considerações Finais, poderiam ser melhor entendidos no contexto de trabalhos com um número maior de pacientes. Como explicado, a etapa de recrutamento de nosso projeto foi prejudicada pela pandemia de COVID-19, quanto muitos pacientes deixaram de ter atendimento presencial. Hoje, no contexto pós-vacinação para a doença, os atendimentos estão praticamente normalizados. Nosso trabalho encontrou uma prevalência maior do que a esperada de antígeno de *Histoplasma* detectado em testes de urina de pacientes com doenças crônicas autoimunes. Seria de muito interesse confirmar esse dado ampliando a testagem em caráter de pesquisa.

Estudos amplos que apurem questões afins às que pesquisamos teriam implicações práticas importantes no atendimento aos usuários de imunobiológicos. O entendimento do mecanismo de adoecimento na infecção por *Histoplasma* teria impacto na elaboração dos próximos *guidelines* destinados ao cuidado destes pacientes, quanto necessidade ou não de testagem pré-tratamento ou reforço de orientações para cautela quanto à exposição ao fungo, como locais de criadouros de pássaros, por exemplo. Esperemos que nossas publicações incentivem o interesse pelo tema e suscitem novos trabalhos.

## 11. ANEXOS E/OU APÊNDICES

### 11.1 Formulários

#### 11.1.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (*aplicação detalhada no Artigo 2*):

**Título de trabalho do Projeto:** Histoplasmosse disseminada: rastreamento em pessoas em uso de medicamentos biológicos

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar a presença do fungo *Histoplasma capsulatum* como causa de infecção oportunista em pacientes usando medicamentos imunossupressores. Com os métodos atualmente disponíveis, em alguns casos pode ser difícil saber com rapidez e precisão se esta infecção está presente no organismo. Este fungo em alguns pacientes pode causar doença grave. Neste estudo, avaliaremos novos métodos para o diagnóstico dessa infecção e para isso, testaremos sua urina para a presença deste fungo. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Infectologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: você deverá urinar em um frasco próprio para a coleta de urina, o volume aproximado de 20 mL (meio frasco). A amostra de urina será congelada e enviada para o Laboratório de Biologia Molecular da Santa Casa, onde será realizado o teste para pesquisa desse fungo. Também faremos uma breve entrevista e revisaremos seu prontuário médico para saber mais sobre o estado de sua doença, agora e após 30 e 180 dias. Todas as informações referentes a sua identificação serão mantidas em sigilo. Os resultados dos exames serão repassados ao seu médico, que decidirá, em conjunto com os demais exames realizados rotineiramente no hospital, sobre o seu tratamento e acompanhamento, de acordo com a rotina do serviço e preconizado pelas diretrizes nacionais de tratamento.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são possível dissabor na hora da coleta da urina, que será realizada com a maior privacidade possível, no banheiro. As perguntas da entrevista serão breves e podem oferecer mínimo desconforto.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são: o seu médico poderá tomar conhecimento, em conjunto com os exames já realizados rotineiramente, caso você esteja com infecção por este fungo; ainda, os resultados gerados por este estudo poderão ajudar muitos outros pacientes que estejam doentes com o mesmo problema, e também para a prevenção dessas doenças.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Diego Rodrigues Falci, pelo telefone (51) 3359-7749, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

---

Nome do participante da pesquisa

---

Assinatura

---

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

---

Assinatura

Local e Data: \_\_\_\_\_

10.1.2. **Ficha clínica para coleta de dados** (aplicação detalhada no Artigo 2):

**DEMOGRÁFICOS**

- 1) Data de inclusão do paciente: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)
- 2) Iniciais do paciente: \_\_\_\_\_
- 3) Cidade e bairro de procedência: \_\_\_\_\_
- 4) Profissão: \_\_\_\_\_
- 5) Local de residência:  Urbano  Semi-Urbano  Rural
- Moradia precária
- 6) Sexo:  Masculino  Feminino
- 7) Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

**Fatores de risco (exposições ambientais)**

- 8) Atividade rural:  Sim  Não
- 9) Contato com galinheiro:  Sim  Não
- 10) Cavernas:  Sim  Não
- 11) Lugares com morcegos:  Sim  Não
- 12) Túneis:  Sim  Não
- 13) Construção civil:  Sim  Não
- 14) Exposição a pássaros:  Sim  Não

**QUADRO CLÍNICO (se paciente sintomático no momento da entrevista)**

- 15) Data do início dos sintomas: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)
- 16) Data da suspeita diagnóstica de doença fúngica: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)
- 17) Febre:  Sim  Não
- 18) Esplenomegalia:  Sim  Não

- 19) Perda de peso:  Sim  Não
- 20) Diarreia:  Sim  Não
- 21) Padrão miliar:  Sim  Não
- 22) Pancitopenia:  Sim  Não
- 23) Hepatomegalia:  Sim  Não
- 24) Adenomegalia:  Sim  Não
- 25) Cefaleia:  Sim  Não
- 26) Convulsões:  Sim  Não
- 27) Cegueira ou outras alterações visuais:  Sim  Não
- 28) Surdez ou hipoacusia:  Sim  Não
- 29) Déficits de força ou sensibilidade:  Sim  Não
- 30) Sintomas pulmonares (tosse, dispneia, dor torácica, hemoptise):  Sim  Não
- 31) Lesões de pele:  Sim  Não
- 32) Lesão oral de etiologia desconhecida:  Sim  Não
- 33) Linfonodos palpáveis:  Sim  Não

### **DOENÇA auto-imune**

#### 34) Diagnóstico

Artrite reumatóide<sup>[1]</sup><sub>SÉP</sub>

Espondilite anquilosante<sup>[1]</sup><sub>SÉP</sub>

Artrite psoriática

Artite idiopática juvenil

Uveíte

Psoríase

Doença inflamatória Intestinal

Outra. Qual: \_\_\_\_\_

35) Tempo de doença em meses: \_\_\_\_\_

36) Imunossuppressores em uso (1)

37) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

38) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

39) Medicamento e Formulação utilizada: \_\_\_\_\_

40) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

41) Imunossuppressores em uso (2)

42) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

43) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

44) Medicamento e Formulação utilizada: \_\_\_\_\_

45) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

46) Imunossuppressores em uso (3)

47) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

48) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

49) Medicamento e Formulação utilizada: \_\_\_\_\_

50) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

51) Imunossuppressores em uso (4)

52) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

53) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

54) Medicamento e Formulação utilizada: \_\_\_\_\_

55) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

**RESULTADOS DO TESTES E DIAGNÓSTICO (preencher somente após a realização dos testes e seguimento, respectivamente)**

56) Resultado dos testes:

*Histoplasma capsulatum*:  Positivo  Negativo

57) Diagnóstico final (confirmado) de doença fúngica:

Histoplasmose

Sem confirmação de doença fúngica

**Seguimento (Preencher somente no seguimento – 30 e 180 dias)**

58) Foram prescritos medicamentos antifúngicos?  Sim  Não

59) Os medicamentos prescritos foram todos para tratamento das doenças fúngicas pesquisadas?

Sim  Não (Se sim, verificar todos os que se aplicam a seguir)

**Itraconazol**

60) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

61) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

62) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

**Anfotericina B**

63) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

64) Data da última dose: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

65) Formulação utilizada: \_\_\_\_\_

66) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

Outro antifúngico (especificar)

67) Data que iniciou o tratamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

68) Data da última dose: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

69) Quantidade da última dosagem (mg): \_\_\_\_\_

**COMORBIDADES INFECCIOSAS E DESFECHOS (preencher somente no seguimento – 30 e 180 dias)**

70) Diagnóstico de outras infecções:

TB    Pneumocistose    Infecção bacteriana    Toxoplasmose

CMV    Outras infecções virais

Outra infecção (especificar)

\_\_\_\_\_

71) Datas de seguimento:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

72) Resultado do último encontro:

Morte

Sobrevida

Data da morte: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (dd/mm/aaaa)

73) Outros resultados ou observações:

## 11.2 Checklists dos guidelines STROBE e PRISMA dos artigos originais

### 11.2.1 PRISMA checklist para o Artigo 1

Section and Topic	Item	Checklist item	Location where item is reported
<b>TITLE</b>			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	41
<b>ABSTRACT</b>			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	41
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	41 – 42
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	42
<b>METHODS</b>			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	43
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	42 – 43
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	42 – 43
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	43
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	43
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	43
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	43
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	42 – 43
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	43
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	43
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	43
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	43
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	43
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	43

Section and Topic	Item	Checklist item	Location where item is reported
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	43
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	43
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	43
<b>RESULTS</b>			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	44
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	-
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	45
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	43 – 45
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	45
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	45
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	46-48
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	45-48
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	48
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	47
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	46 – 47
<b>DISCUSSION</b>			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	49 – 50
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	50 – 51
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	50
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	50– 51
<b>OTHER INFORMATION</b>			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	-
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	-
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	-
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	51 – 42
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	51
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	43

### 11.2.2 STROBE checklist para o Artigo 2

STROBE Statement — Checklist of items that should be included in reports of *cohort studies*

	Item No	Recommendation	Page No
<b>Title and abstract</b>	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	55
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	55
<b>Introduction</b>			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	56
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	57
<b>Methods</b>			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	57
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	57
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up  (b) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	57
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	57-58
Data sources/measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	57-58
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	58
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	58
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	57-58
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	58
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	58
		(c) Explain how missing data were addressed	58
		(d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed	58
		(e) Describe any sensitivity analyses	58

<b>Results</b>			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	58
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	58
		(c) Consider use of a flow diagram	-
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	58, 67, 68
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	59
		(c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	59
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures over time	59
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	59
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	-
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	-
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	59
<b>Discussion</b>			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	60
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	62
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	60-62
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	62
<b>Other information</b>			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	63

\*Give information separately for exposed and unexposed groups.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at <http://www.strobe-statement.org>.

*Fonte:* von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Ann Intern Med.* 2007; 147(8):573-577.