

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E  
COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS aureus*  
EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
LARISSA RODRIGUES LEOPOLDO

Porto Alegre, Brasil, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E  
COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS aureus*  
EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA**

Orientadora Profa. Dra. Tania Ferreira Cestari

Autora Larissa Rodrigues Leopoldo

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre, Brasil, 2017

Leopoldo, Larissa Rodrigues

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E COLONIZAÇÃO  
POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM PACIENTES COM DERMATITE  
ATÓPICA / Larissa Rodrigues Leopoldo. -- 2017.

92 f.

Orientador: Tania Ferreira Cestari.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,  
Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Dermatite Atópica. 2. Vitamina D. 3.  
Staphylococcus aureus. I. Cestari, Tania Ferreira,  
orient. II. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**

**SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

ESTA DISSERTAÇÃO / TESE FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

18/12/2017

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Sady Selaimen da Costa

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Flávia Pereira Reginatto

Universidade Federal da Fronteira Sul

Dra. Juliana Catucci Boza

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

## **Agradecimentos e Dedicatória**

Agradeço à Deus que me criou e sustentou até aqui. Sou muito grata à Profa. Dra. Tania Ferreira Cestari que sempre me incentivou, ensinou e esteve ao meu lado na concretização desta dissertação e em toda a minha trajetória profissional.

Agradeço a todos os pacientes e seus pais e/ou responsáveis que aceitaram participar deste trabalho, contribuindo para o aumento do conhecimento sobre a dermatite atópica.

Agradeço ao Laboratório Mont'Serrat na pessoa do Dr. Osmar Oliveira que proporcionou a realização das culturas bacteriológicas em seu laboratório.

Agradeço a minha filha Isabela que suportou minha ausência durante a realização desta dissertação.

Dedico este trabalho ao meu marido, Maurício Noschang e a nossa filha Isabela, que me inspiram a ser uma pessoa melhor todos os dias.

## RESUMO

**Introdução:** A dermatite atópica (DA) é doença inflamatória crônica com elevada prevalência na população pediátrica. A vitamina D (VD) com seu papel na imunorregulação, na diferenciação celular da pele e no estímulo aos peptídeos antimicrobianos da barreira cutânea tem sido associada a DA. **Objetivos:** Avaliar os níveis de VD e índices de colonização nasal e lesional em pacientes com dermatite atópica e controles e correlacioná-los com a gravidade da doença. **Métodos:** Estudo transversal com grupo controle em uma população de ambos os sexos, com idades entre 2 e 18 anos, moradores de zona urbana de Porto Alegre, cidade localizada no Brasil, na latitude 30°S. Os níveis séricos de 25(OH)D e swab nasal foram realizados em todos a amostra. Já nos atópicos, swab cutâneo lesional também foi coletado. Os participantes foram classificados quanto a sexo, idade, fototipo, peso/altura e nível socioeconômico dos pais. Nos atópicos, a gravidade da doença foi avaliada através do SCORAD. **Resultados:** Participaram do estudo 202 crianças e adolescentes, sendo 102 com dermatite atópica e 100 controles. Na população total foi encontrado que 73,3% tinham níveis de deficiência/insuficiência de vitamina D, apresentando médias de VD nos meses de inverno de 22,05ng/ml e no verão de 32,02ng/ml ( $p < 0,001$ ). Entre as faixas etárias, foram encontrados menores níveis (22,46ng/ml) nos adolescentes entre 12-18 anos. Já nas crianças, de 2-4 anos, foi de 26,29ng/ml, e nas de 5- 11 anos, 27,11ng/ml, ( $p < 0,01$ ). As médias de VD de pacientes atópicos e controles saudáveis, foram 25,51ng/ml e 27,7ng/ml, respectivamente ( $p = 0,049$ ). Não foi encontrada correlação entre a gravidade da doença e níveis de VD. Os níveis de VD não se correlacionaram com a colonização nasal ou lesional,  $p > 0,05$ . **Conclusões:** Os pacientes com dermatite atópica apresentaram VD sérica menor quando comparados aos controles. Não houve associação entre os níveis de VD e gravidade da doença ou colonização por *S.aureus*.

**Palavras-chave:** Dermatite atópica. Vitamina D. *S.aureus*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory disease with a high prevalence in the pediatric population. The role of vitamin D in immunoregulation, in cell differentiation and stimulation of skin antimicrobial peptides of the skin barrier has been linked to AD. **Objectives:** To evaluate the levels of vitamin D (VD) and nasal colonization rates in patients with atopic dermatitis (AD) and controls, and to correlate them with the severity of the disease. To verify the rate of cutaneous lesion colonization by *Staphylococcus aureus* in atopics. **Methods:** This was a cross-sectional study with participants from both genders, aged between 2 years and 18 years, living in the urban area of Porto Alegre, a city located in Brazil, at latitude 30°S. Serum levels of 25(OH)D and nasal swab were obtained from each participant. In the atopic population, a swab was also collected from the cutaneous lesion. The participants were classified according to gender, age, phototype, weight, height, and socioeconomic level of the parents. In atopics, disease severity was assessed through SCORAD. **Results:** Of the 202 children and adolescents who were assessed in this study, 102 had AD, and 100 were the controls. From the overall population, 73.3% had VD deficiency/insufficiency levels. Mean value of VD in the winter months was 22.05 ng/ml and in the summer months was 32.02 ng/ml ( $p < 0.001$ ). As per age group, lower levels (22.46 ng/ml) were found among adolescents aged 12–18 years. Among children 2–4 years old, the level was 26.29 ng/ml, and among 5–11 years old, 27.11 mg/ml ( $p < 0.01$ ). The VD mean values from atopic patients and healthy controls were 25.51 ng/ml and 27.7 ng/ml, respectively ( $p = 0.049$ ). No correlation was found between disease severity and VD levels. No correlation was found between disease severity and RV levels. There was also no correlation between vitamin D levels with nasal or lesional colonization,  $p > 0.05$ . **Conclusions:** Patients with AD had lower serum VD levels compared to controls. There was no association between VD levels and disease severity or *S. aureus* colonization.

**MeSH terms:** Atopic dermatitis. Vitamin D. *S. aureus*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. FIGURA 1 - Escala de Fototipos de Fitzpatrick .....	28
2. FIGURA 2 - Escore Z do IMC e classificação .....	29
3. FIGURA 3 - Exemplificação dos critérios eritema e edema/papulação utilizados no SCORAD .....	30
4. FIGURA 4 - Exemplificação dos critérios exsudação e crostas do SCORAD .....	31
5. FIGURA 5 - Exemplificação dos critérios Escoriação e Liquenificação do SCORAD .....	32

## LISTA DE TABELAS

1. **TABELA 1** – Características demográficas da amostra de crianças com dermatite atópica e controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA. (n=202) .....36
2. **TABELA 2** — Comparação dos níveis de vitamina D da amostra de crianças com dermatite atópica e dos controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA (n=202) .....38
3. **TABELA 3** – Análise dos Fatores Associados à Deficiência de Vitamina D em Todos os Participantes através de Modelo Linear Generalizado .....39
4. **TABELA 4** - Análise dos Fatores Associados ao Aumento do Escore de Gravidade da Dermatite Atópica (SCORAD) .....40

## LISTA DE ABREVIATURAS

DA – Dermatite Atópica

SCORAD – *Scoring atopic dermatitis* – Escore de dermatite atópica

VD – Vitamina D

S. AUREUS- *Staphylococcus aureus*

VDR - Receptores nucleares específicos

AMP – Peptídeo Antimicrobiano

UVB – Ultravioleta B

IgE- Imunoglobulina E

Th1 – Linfócitos T *helper* 1

Th2 – Linfócitos T *helper* 2

FcεRI – Receptores de alta afinidade para IgE

TEWL - *Trans Epidermal Water Loss* - Perda da hidratação transepidérmica

pH – Potencial hidrogênico

IMC – Índice de massa corporal

UI – Unidade internacional

IC – Intervalo de confiança

EASI - *Eczema area and severity index* – Escala de área e gravidade do eczema

GPPG - Comissão de Ética Médica Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

SPSS® – *Statistical Package for Social Science*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>3. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>22</b>
<b>4. OBJETIVO.....</b>	<b>23</b>
<b>5. HIPÓTESE DE ESTUDO .....</b>	<b>24</b>
<b>6. METODOLOGIA .....</b>	<b>25</b>
6.1. Delineamento .....	25
6.2. População amostral .....	25
6.3. Critérios de Inclusão dos Casos .....	25
6.4. Critérios de Exclusão dos Casos .....	25
6.5. Critérios de Inclusão dos Controles .....	26
6.6. Critérios de Exclusão dos Controles .....	26
6.7. Cálculo para Tamanho de Amostra .....	27
6.8. Materiais e Métodos .....	27
6.9. Análise Estatística .....	33
<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
<b>8. DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>9. CONCLUSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>10. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>56</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica de caráter intermitente, que se caracteriza por pele seca, placas eczematosas e prurido. A presença de outras manifestações atópicas associadas, como asma e rinite alérgica, é observada em cerca de 80% dos casos(Ramos E Silva M., 2009; Weidinger e Novak, 2015).

O quadro clínico da doença varia conforme a faixa etária do paciente, grupo étnico, evolução e duração da doença, além de fatores agravantes, podendo ser alterada por possíveis complicações, como uma sobreinfecção. A DA pode apresentar-se na forma aguda, subaguda e crônica, variando de leve a grave. Na fase aguda há pápulas e placas eritematosas exsudativas e erosadas; na subaguda, pápulas e placas eritematosas, escoriadas e descamativas. Já na fase crônica da doença, há espessamento da pele e suas linhas são salientadas, caracterizando a liquenificação(Ramos E Silva M., 2009; Weidinger e Novak, 2015).

Nos lactentes e crianças pequenas a DA acomete principalmente a face e as superfícies extensoras dos membros. Nos escolares, as superfícies flexoras são mais comumente afetadas e a liquenificação flexural é característica(Ramos E Silva M., 2009; Weidinger e Novak, 2015).

A gravidade da doença pode ser avaliada através de escalas que apresentam medidas objetivas, verificadas pelo examinador, e subjetivas, avaliadas pelos pacientes. Uma das escalas validadas para tal finalidade é o SCORAD(Kunz *et al.*, 1997). Neste escore, o avaliador faz a mensuração objetiva da superfície corporal acometida pela doença e a graduação das lesões ativas, com as variáveis eritema, edema, exsudação, escoriação e liquenificação. A xerodermia na pele não acometida pelas lesões também é avaliada. Todas as variáveis são graduadas de ausente, leve, moderada a grave. Os

pacientes avaliam seus sintomas de prurido e insônia causada pela doença, através de uma escala visual de zero a dez (Kunz *et al.*, 1997).

A prevalência da DA é maior em países industrializados, acometendo 15-17% das crianças em idade escolar. Estudos mostram aumento da prevalência associada aos seguintes fatores: elevado nível socioeconômico, maior escolaridade, pertencer a famílias menores e viver em centros urbanos(Daveiga, 2012).

É bem conhecido que a dermatite atópica é influenciada pela sazonalidade, tendo piora nos meses de inverno(Weiland *et al.*, 2004). Observou-se também que regiões com maiores latitudes, apresentam maior prevalência da patologia, provavelmente devido à menor exposição solar durante o ano(Weiland *et al.*, 2004; Byremo *et al.*, 2006; Vestita *et al.*, 2015).

*Kim et al* realizou estudo na Coréia e avaliou o efeito da sazonalidade nos sintomas em 590 crianças com DA. Eles demonstraram que os sintomas cutâneos foram piores nos meses de primavera, outono e inverno, quando comparados ao verão. O pior mês foi abril, logo antes de começar o verão no hemisfério Norte(Kim *et al.*, 2017). Alguns autores postulam que a piora clínica dos pacientes com DA no inverno é devida à menor quantidade de radiação solar recebida e talvez possa ser mediada pela menor produção de vitamina D(Vestita *et al.*, 2015).

A DA é resultante de alterações imunológicas, disfunção na barreira cutânea e interações do meio-ambiente com a pele. É uma doença de sintomas pronunciados que afeta a qualidade de vida dos portadores e de seus familiares(Manzoni *et al.*, 2012).

A base fisiopatológica da atopia está na alteração da barreira cutânea, tendo como grande símbolo clínico, a pele seca. A barreira disfuncional, predispõe o paciente a uma maior susceptibilidade a agressões do meio externo e a infecções

cutâneas(Jinnestål *et al.*, 2014). A falha na interação com o meio externo gera uma resposta imunológica patológica, provocando toda uma cascata inflamatória que vai resultar na presença clínica do eczema cutâneo(Addor e Aoki, 2010).

Os pacientes com DA apresentam maior número de infecções por bactérias, fungos e vírus, quando comparados à população normal. Esses indivíduos possuem uma menor diversidade de bactérias colonizadoras da pele(Hepburn *et al.*, 2017). Dentre as bactérias, o *Staphylococcus aureus* é a mais comum e tem grande impacto no controle da doença(Petry *et al.*, 2012). Cerca de 90% dos pacientes com DA são colonizados nas lesões por *S. aureus*, 55-75% na pele sem lesão e 80% no vestíbulo nasal, comparados com 5-30% da população controle sem atopia(Addor e Aoki, 2010; Petry *et al.*, 2012).

A colonização por *S. aureus* pode induzir a produção de muitos agentes pró-inflamatórios, ativando a cascata imune cutânea e perpetuando o fenômeno inflamatório da DA(Petry *et al.*, 2012; Gilaberte *et al.*, 2014). Higaki *et al* avaliaram 21 pacientes com DA e os compararam com controles saudáveis, demonstrando que quanto maior a gravidade da doença, maior a porcentagem de pacientes colonizados, sendo que naqueles com DA leve 77,8% estavam colonizados, na moderada, 87,8%, e na grave chegou a 100% em sua amostra(Higaki *et al.*, 1999).

Na barreira cutânea fisiológica há produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs) pelos queratinócitos, o que confere importante proteção contra micro-organismos externos, como o *S.aureus*(Petry *et al.*, 2012). Dentre os AMPs, a catelicidina e as beta-defensinas são as mais conhecidas(Schauber e Gallo, 2008; Roider *et al.*, 2013). Tem sido sugerido que os níveis de AMPs estariam alterados na epiderme de atópicos, aumentando sua susceptibilidade a vírus, fungos e bactérias(Roider *et al.*, 2013; Clausen *et al.*, 2015).

A vitamina D (25-hidroxivitamina D), é um hormônio lipossolúvel que tem como sua função principal atuar na homeostase do cálcio e no metabolismo ósseo, mas que também apresenta papel importante na imunorregulação e diferenciação celular da pele (Bikle, 2012). A vitamina D é produzida essencialmente na pele, através da exposição da pele à radiação ultravioleta B (UVB), e primeiro metabólito é chamado de colecalciferol. Após essa fase na pele, ela vai para o fígado, onde se converte em 25-hidroxivitamina D, forma circulante e aferida através de exames séricos. Uma terceira etapa ocorre nos rins, em que é gerado o metabólito ativo 1,25 dihidroxivitamina D (1,25 (OH)<sub>2</sub> D) ou calcitriol (Chiu *et al.*, 2013; Mesquita *et al.*, 2013).

O calcitriol altera o balanço de cálcio celular, liga-se a receptores nucleares específicos (VDR) e regula a transcrição de genes (Van Etten e Mathieu, 2005; Bikle, 2012; Mutgi e Koo, 2013). A vitamina D tem inúmeras funções reguladoras na pele, como inibição da proliferação celular, estímulo da diferenciação dos queratinócitos, promovendo a permeabilidade da barreira cutânea, promoção da imunidade inata e estímulo à produção de peptídeos antimicrobianos, (AMPs) importantes no primeiro combate à microrganismos patogênicos (Bikle, 2012); (Van Etten e Mathieu, 2005; Mesquita *et al.*, 2013).

Os níveis de normalidade de 25(OH)D ainda não estão bem estabelecidos, principalmente para a população pediátrica. A Sociedade de Endocrinologia classifica como níveis de concentração de vitamina D sanguíneos suficientes maiores que 30ng/ml, deficientes de 21-29ng/ml e insuficientes menores de 20ng/ml (Holick *et al.*, 2011).

A produção da vitamina D através da pele é influenciada por diversos fatores, tais como gênero, fototipo, peso, faixa etária do indivíduo, latitude do local onde vive,

hábitos de exposição solar, uso de filtros solares e estação climática(Godar, 2001; Thieden *et al.*, 2009). Godar *et al* demonstrou em 2001 que crianças do sexo masculino praticam mais atividades ao ar livre quando comparados com o sexo feminino da mesma faixa etária, logo produzindo uma maior quantidade de vitamina D(Godar, 2001).

Outro fator importante na produção da vitamina é o fototipo. Sabe-se que existe uma correlação inversa entre quantidade de melanina na pele e os níveis de vitamina D sérica. Quanto mais melanodérmica for a pessoa, menor a vitamina D sanguínea. Pessoas brancas com fototipo II apresentam níveis de vitamina D de 2 a 3 vezes maiores quando comparados com negros ou pardos com fototipo V (Dong *et al.*, 2010; Vestita *et al.*, 2015).

Diferentes faixas etárias apresentam atividades cotidianas diversas, hábitos alimentares típicos e cuidados usuais pelos pais, ocasionando diferenças nos níveis de vitamina D comumente encontrados. Diversos estudos mostram que crianças menores de 5 anos se expõem por mais tempo ao sol em atividades ao livre, produzindo assim mais VD, quando comparados com escolares e adolescentes(Godar, 2001; Godar *et al.*, 2012). Em indivíduos adultos, quanto maior a idade, menor a sua capacidade de absorção da vitamina através da pele(Wacker e Holick, 2013).

Os níveis de VD de uma população são influenciados pela sua localização geográfica no globo terrestre. A latitude, que gradua o distanciamento das cidades em relação à linha do Equador, tanto ao Norte quanto ao Sul, aumentará na proporção que diminuirá a quantidade de radiação solar. Estudos que avaliaram níveis de VD em crianças, adolescentes e adultos que viviam próximos à linha do Equador mostraram

níveis médios próximos de 40ng/ml; entretanto, em indivíduos que moravam distantes, tanto ao Sul, quanto ao Norte, apresentavam média de 15ng/ml(Wacker e Holick, 2013).

As estações climáticas também possuem alto impacto na quantidade de VD produzida pelas populações. Nos meses de verão e primavera o tempo de exposição ao sol e a quantidade de superfície corporal não coberta por vestimenta, são maiores, acarretando maior potencial de produção de VD(Godar, 2001; Thieden *et al.*, 2009; Godar *et al.*, 2012). Pessoas que vivem além da latitude 33°, Norte ou Sul, nos meses de inverno apresentam pouquíssima possibilidade de produção da vitamina D(Wacker e Holick, 2013).

Devido às propriedades essenciais da vitamina D na pele, como a regulação da resposta inflamatória, a influência na proliferação celular e produção de peptídeos antimicrobianos, surgiu a hipótese de investigar a possível associação de deficiência dessa vitamina e a dermatite atópica, pois faz parte da doença a alteração da barreira cutânea e uma grande susceptibilidade a infecções de pele(Mesquita *et al.*, 2013; Gilaberte *et al.*, 2014).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

A fundamentação fisiopatológica da DA é dividida em quatro pilares: genética, imunologia, microbiologia e barreira cutânea. Há muitas evidências de influências de fatores genéticos no desenvolvimento da DA, como associações pessoais e familiares com outras doenças atópicas e concordância de 80% entre gêmeos monozigóticos(Thomsen *et al.*, 2007).

A base imunológica da dermatite atópica consiste em aumento sérico de IgE, sensibilização a alérgenos, aumento de citocinas tipo Th2, aumento da expressão de receptores de alta afinidade para IgE (FcεRI) nas células de Langerhans e células dendríticas inflamatórias epidérmicas, assim como a diminuição da expressão de peptídeos antimicrobianos. A maioria dos pacientes tem níveis de IgE elevados correlacionando-se com a gravidade da doença. Sabe-se também que, na fase crônica da dermatite atópica, há um predomínio de resposta Th1, com produção de interferon gama(Addor e Aoki, 2010). Atualmente, há tendência de maior valorização da alteração da barreira cutânea em relação à imunologia no que diz respeito à etiopatogenia da dermatite atópica(Weidinger e Novak, 2015).

Os atópicos apresentam maior perda da hidratação transepidérmica (TEWL), desidratação do estrato córneo e aumento do pH da pele(Jungersted *et al.*, 2010). Essas alterações da barreira predis põem o paciente a uma maior fragilidade a agressões e infecções cutâneas(Jinnestål *et al.*, 2014).

Dentre as alterações imunológicas inatas presentes na DA, está a alteração na produção dos AMPs, que são peptídeos antimicrobianos produzidos principalmente pelos queratinócitos na pele humana(Clausen *et al.*, 2015). A catelicidina e beta-

defensinas são os AMPs mais estudados e melhor caracterizados, mas existem mais de 20 outras proteínas com atividade antimicrobiana na pele. Em condições fisiológicas, as catelicidinas promovem proteção contra infecções bacterianas e virais (Mutgi e Koo, 2013). Estudos mostram uma redução de AMPs nas lesões de DA quando comparados com lesões de psoríase, explicando a maior susceptibilidade a infecções presente na DA (Clausen *et al.*, 2015).

O aumento da aderência do *S.aureus* na epiderme dos indivíduos com DA e a menor quantidade de peptídeos antimicrobianos endógenos (AMPs) na pele lesionada, podem contribuir para o aumento da taxa de colonização e infecções por *S.aureus* nos atópicos (Petry *et al.*, 2012; Clausen *et al.*, 2015). A correlação entre a gravidade do eczema e a colonização por *S.aureus* é bem estabelecida, sendo ela um potencial desencadeador para a piora clínica de muitos pacientes (Petry *et al.*, 2012).

Peroni *et al* estudaram em 2011, 37 crianças com DA e avaliaram escore de gravidade através do SCORAD e sua correlação com os níveis de vitamina D. Os autores encontraram maiores níveis de vitamina D nas crianças com doença leve ( $p < 0.05$ ), quando comparado com aquelas com sintomas moderados ou graves (Peroni *et al.*, 2011). Cheon *et al* avaliaram 91 pacientes pediátricos com DA e 32 controles e observaram níveis mais baixos de vitamina D no grupo DA em comparação aos controles ( $p < 0.05$ ) (Cheon *et al.*, 2015). Wang *et al* publicaram estudo caso-controle com 498 casos e 328 controles, mostrando também diferença significativa nos níveis de vitamina D entre casos e controles ( $p < 0.001$ ), tendo correlação inversa com o escore de gravidade da doença (Wang *et al.*, 2014). Esses dados sugerem possível associação dos níveis baixos de vitamina D e a dermatite atópica, inclusive correlacionando-os com sua gravidade.

D'auria *et al* avaliaram crianças italianas, sendo 52 com dermatite atópica e 43 controles saudáveis, comparando níveis de vitamina D e IMC. Além disso, os autores procuraram correlacionar a gravidade da doença com os níveis de vitamina D encontrados. Ao analisar os dados, observaram haver diferença dos níveis de vitamina entre os grupos, mesmo após o controle de variáveis que pudessem influenciar os resultados, como sexo, idade e estação do ano, mostrando uma média de 24.8 ng/ml nos controles e 19.4 nos pacientes com DA, ( $p=0,01$ ). Entretanto, essa significância estatística não foi confirmada na análise multivariada. Não foi encontrada correlação entre a vitamina D e gravidade da doença(D'auria *et al.*, 2017). Esse estudo mostrou diferenças das médias de vitamina D entre os grupos numa população branca, com número pequeno de pacientes, em zona de clima temperado. Todavia, os autores não evidenciaram correlação com gravidade da doença.

Estudo de Gilaberte *et al*, realizado em dois centros na Espanha, sobre dermatite atópica pediátrica, investigou a associação da colonização nasal e lesional por *S.aureus* e níveis séricos de vitamina D, relacionados com a gravidade da dermatite atópica. A colonização nasal por *S.aureus* associou-se significativamente com a colonização lesional e também com baixos níveis séricos de vitamina D(Gilaberte *et al.*, 2014). Esse estudo justifica novas pesquisas para melhor avaliar a associação entre a colonização por *S. aureus* e níveis séricos reduzidos de vitamina D.

Por outro lado, em estudo realizado em 2013 nos Estados Unidos, Chiu *et al* não observaram menores índices de vitamina D na população atópica quando comparado com controles. Os autores inclusive constataram níveis mais baixos nos casos leves, quando comparados com os moderados a graves(Chiu *et al.*, 2013). Um fato que chama a atenção nesse estudo é que a população em mais de 90% da sua totalidade era

composta por pacientes negros, indivíduos que caracteristicamente possuem níveis mais baixos de VD.

Estudo realizado no estado do Paraná, Brasil, por Robl *et al* (2016), nos meses de outono, inverno e primavera, avaliou 105 pacientes atópicos menores de 14 anos. O estudo não encontrou correlação entre baixos níveis de vitamina D e gravidade da doença, sendo que os valores de VD encontrados eram insuficientes ou deficientes em 85% das crianças avaliadas (Robl *et al.*, 2016). A ausência de grupo controle não permitiu avaliar se a população com DA apresentava menores níveis de VD em comparação com crianças saudáveis. Apenas demonstrou que, na grande maioria delas (85%), havia deficiência ou insuficiência sérica de VD.

Albenali *et al* (2016) avaliaram 90 pacientes com idades entre 1 a 18 anos, sem grupo controle, no Reino Unido, durante 3 meses de verão. Eles encontraram 57% dos pacientes com níveis de insuficiência e 26% com deficiência de VD. No grupo que já havia apresentado um episódio de eczema herpético, os níveis de VD foram ainda menores. Sua análise demonstrou correlação entre baixos níveis de vitamina D e maior gravidade da doença. Após essa avaliação inicial, os que apresentavam níveis de insuficiência, receberam suplementação com vitamina D por 2 meses, proporcional à idade e grau de insuficiência. As crianças de 1-12 anos, receberam dose diária de 6000 UI, as de 12-18 anos, 10000 UI diárias. Já as crianças que apresentavam apenas deficiência de vitamina D, receberam suplementação apenas com 100% da dose diária recomendada de VD. A gravidade da doença foi novamente verificada após a suplementação, mostrando 42% de redução do SCORAD, ( $p < 0,01$ ) (Albenali *et al.*, 2016).

Camargo *et al* (2014) fizeram ensaio clínico randomizado com 107 crianças da Mongólia que tinham DA relacionada ao inverno e as suplementaram com vitamina D<sub>3</sub>, colecalciferol, por 1 mês, com uma dose de 1000 UI/dia. A comparação com o grupo placebo mostrou melhora clínica estatisticamente significativa, avaliada pelo EASI (*Eczema Area Severity Index*)(Camargo *et al.*, 2014). Outro estudo que incluiu 30 pacientes atópicos, adultos e crianças, comparados com 30 pacientes não atópicos e 16 pacientes com psoríase. Os autores avaliaram níveis de vitamina D sérica e escores de gravidade da doença, como EASI e administraram colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) na dose de 4000 UI/dia por 21 dias. Os resultados não demonstraram diferença significativa entre os grupos na avaliação do EASI final(Hata *et al.*, 2014).

Como podemos observar, nos estudos intervencionistas com administração oral de vitamina D, também há controvérsias nos achados(Camargo *et al.*, 2014; Hata *et al.*, 2014; Albenali *et al.*, 2016; D'auria *et al.*, 2017). Os autores usaram diferentes doses e durações de tratamento e encontraram resultados conflitantes após a suplementação(Camargo *et al.*, 2014; Hata *et al.*, 2014; Albenali *et al.*, 2016).

Em meta-análise e revisão sistemática publicadas por Kim *et al* (2016), foram analisados dados de 11 estudos no total, 7 observacionais e 4 ensaios clínicos que versavam sobre níveis de 25-hidroxivitamina D e escores de gravidade da dermatite atópica. Todos os estudos incluídos possuíam grupo de controles saudáveis e pacientes com DA, de todas as idades. Os níveis de VD foram significativamente menores naqueles com DA, com uma diferença média de -2,03ng/ml (IC = -2.52 a -0.78). Já na população pediátrica, a diferença de médias foi maior, -3,03ng/ml (95% IC = -4.76 a -1.29)(Kim *et al.*, 2016).

Os mesmos autores avaliaram estudos de suplementação de vitamina D e seu impacto nos escores de gravidade da doença. Encontraram redução média de 5,85 (95% IC = - 7.66 a - 4.05) nos escores de gravidade da DA. Entretanto, como informado por seus autores, esse estudo não teve controle de potenciais vieses como localização geográfica, latitude, altitude, estação do ano e hábitos de exposição solar ou ingestão alimentar dos pacientes(Kim *et al.*, 2016).

### 3. JUSTIFICATIVA

A literatura mostra dados controversos em estudos observacionais e até mesmo em ensaios clínicos com intervenção de suplementação de vitamina D (Peroni *et al.*, 2011; Chiu *et al.*, 2013; Camargo *et al.*, 2014). Considerando que a vitamina D tem importante papel na imunorregulação e na defesa contra patógenos, dentre eles o *Staphylococcus aureus*, e que a população com DA apresenta maiores índices de colonização e infecção por tal bactéria, convém estudarmos a possível associação da presença deste germe com menores níveis de VD. Esses questionamentos sobre a inter-relação da DA e a VD motivam a realização de mais estudos sobre o tema para maior robustez na evidência desta possível associação.

#### 4. OBJETIVOS

**a) Primários:**

Avaliação dos níveis séricos de vitamina D (25 (OH) vitamina D) em crianças de 2-18 anos com dermatite atópica e em população controle da mesma faixa etária com outras doenças dermatológicas. Demonstração das características sócio demográficas destas populações.

Avaliar o escore de gravidade da dermatite atópica nos pacientes pediátricos do ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), através de medidas do SCORAD(Kunz *et al.*, 1997).

**b) Secundário:** Verificar a colonização nasal e cutâneo lesional por *S.aureus* nos pacientes atópicos e a colonização nasal nos pacientes controles.

## **5. HIPÓTESE DE ESTUDO:**

Pacientes de 2 a 18 anos, moradores da área urbana e portadores de dermatite atópica, apresentam níveis séricos de vitamina D inversamente proporcional à gravidade de sua doença. A redução do nível de vitamina D sérico está associada a uma maior taxa de colonização por *S.aureus*.

## **6. METODOLOGIA**

### **6.1 Delineamento**

Estudo transversal com braço controle.

### **6.2 População amostral**

Duzentos e dois pacientes com idade entre 2 e 18 anos de idade atendidos no Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de janeiro de 2016 até junho de 2017, sendo 102 casos e 100 controles(Wang *et al.*, 2014).

### **6.3 Critérios de Inclusão dos Casos:**

- a) Idade entre 2 e 18 anos.
- b) Pacientes acompanhados no serviço especializado de dermatologia.
- c) Moradores de região urbana.
- d) Ter diagnóstico de dermatite atópica.
- e) Responsável concordar com a participação da pesquisa e assinar termo de consentimento informado.
- f) Pacientes maiores de 7 anos assinarem o termo de assentimento informado.

### **6.4 Critérios de Exclusão dos Casos:**

- a) Usuários de corticóide oral no momento ou nos últimos 3 meses.
- b) Portadores de doenças da queratinização ou qualquer infecção cutânea.
- c) Pacientes que estão realizando fototerapia no momento ou nos últimos 3 meses.

- d) Pacientes em reposição de vitamina D oral no momento da avaliação ou nos últimos 3 meses.
- e) Uso de antibióticos tópicos nasal ou na lesão cutânea.
- f) Uso de antibióticos sistêmicos no último mês.
- g) Portadores de hiperparatireoidismo, tireotoxicose, sarcoidose, doença de Addison.
- h) Portadores de malignidades que produzam hipercalcemia sérica.
- i) Portadores de doença renal crônica.
- j) Usuários de lítio oral.

#### **6.5 Critérios de Inclusão dos Controles:**

- a) Idade entre 2 e 18 anos.
- b) Pacientes acompanhados no serviço especializado de dermatologia.
- c) Moradores de região urbana.
- d) Responsável concordar com a participação da pesquisa e assinar termo de consentimento informado.
- e) Pacientes maiores de 7 anos assinarem o termo de assentimento informado.

#### **6.6 Critérios de Exclusão dos Controles:**

- a) Usuários de corticóide oral no momento ou nos últimos 3 meses.
- b) Portadores de doenças da queratinização ou de qualquer outra infecção cutânea.
- c) Pacientes que estão realizando fototerapia no momento ou nos últimos 3 meses.
- d) Pacientes em reposição de vitamina D oral atual ou nos últimos 3 meses.
- e) Uso de antibióticos tópicos nasal ou na lesão cutânea.

- f) Uso de antibióticos sistêmicos no último mês.
- g) Portadores de hiperparatireoidismo, tireotoxicose, sarcoidose, doença de Addison.
- h) Portadores de malignidades que produzam hipercalcemia sérica.
- i) Portadores de doença renal crônica.
- j) Usuário de lítio oral.

### **6.7 Cálculo para tamanho da amostra**

Para um nível de significância de 0,05 e um poder (alfa) de 80%, calcula-se uma amostra de 98 pacientes com dermatite atópica e 98 controles.

### **6.8 Materiais e Métodos**

Os pacientes selecionados foram convidados a participar do estudo, sendo que cada paciente e seu responsável foram informados sobre as características do estudo e demonstraram sua aceitação ao assinarem voluntariamente um termo de consentimento informado e um termo de assentimento, quando o paciente era maior de 7 anos (Anexos I, II, III e IV). O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética Médica Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do HCPA.

Foram arrolados 102 pacientes no grupo caso e 100 no grupo controle. Os pacientes eram moradores da cidade de Porto Alegre e região metropolitana, localizada no estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. A cidade localiza-se a 30°S, apresentando clima subtropical úmido, com estações climáticas bem definidas. Os dados dos estudos foram coletados de janeiro de 2016 a junho de 2017.

As coletas do grupo controle foram encerradas em novembro de 2016. O grupo caso encerramos as coletas em junho de 2017. Os pacientes inseridos na pesquisa eram advindos do ambulatório do Serviço de Dermatologia do HCPA, Emergência e Internação Pediátricas do mesmo hospital. Os pacientes do grupo controle apresentavam outras patologias dermatológicas como infecções virais cutâneas como verrugas virais e moluscos contagiosos e acne, em sua maioria.

Todos os pacientes foram avaliados pelo mesmo médico dermatologista. As consultas médicas foram realizadas no Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, exceto os pacientes que estavam internados ou na emergência hospitalar.

Na avaliação realizada pelo pesquisador, foi aplicado questionário (anexo V e VI), realizada a coleta do *swab* nasal e lesional dos casos e somente nasal dos controles, além da avaliação do escore de gravidade da dermatite atópica (SCORAD). Foram também incluídas as medidas como peso, altura, cálculo do IMC, avaliação do fototipo, segundo a escala de *Fitzpatrick*, e exame físico dermatológico completo.

A escala de *Fitzpatrick* foi formulada em 1976, pelo médico norte-americano, Thomas Fitzpatrick. A escala avalia os fototipos da pele com graduação de I a VI, conforme a sua capacidade de bronzear-se, sensibilidade e eritema quando ocorre exposição ao sol (Figura 1)(Fitzpatrick, 1988).

**Figura 1 – Escala de Fototipos de Fitzpatrick**

<i>Fototipo</i>	<i>Queimadura</i>	<i>Bronzeado</i>	<i>Sensibilidade ao Sol</i>
<i>I</i>	Sempre queima	Nunca bronzeia	Muito sensível
<i>II</i>	Sempre queima	Bronzeia muito pouco	Sensível

<b>III</b>	Queima moderadamente	Bronzeia progressivamente	Sensibilidade normal
<b>IV</b>	Queima pouco	Bronzeia moderadamente	Sensibilidade normal
<b>V</b>	Queima raro	Sempre bronzeia	Pouco sensível
<b>VI</b>	Queima nunca	Sempre bronzeia	Nada sensível

Devido ao fato de diferentes faixas etárias estarem representadas no estudo, o Escore Z do IMC foi calculado para cada participante. O escore Z avalia o IMC da criança comparando com crianças do mesmo gênero e da mesma faixa etária (Figura 2)(Organization, 2006).

**Figura 2 – Escore Z do IMC e classificação**

<b>Z IMC &lt; -3: Magreza acentuada</b>
<b>Z IMC &lt; -2: Magreza</b>
<b>Z IMC ≥ -2 e &lt; +1: Eutrofia</b>
<b>Z IMC ≥ +1 e &lt; +2: Sobrepeso</b>
<b>Z IMC ≥ +2: Obesidade</b>
<b>Z IMC ≥ +3: Obesidade grave</b>

Os 102 pacientes do grupo caso tiveram a gravidade de sua doença avaliada pelo escore SCORAD (Anexo VII)(Kunz *et al.*, 1997). Na avaliação do escore de gravidade realizado pelo pesquisador leva-se em conta graduação para eritema, edema e espessura das placas, exsudação e crostas, escoriações e também a liquenificação presentes no paciente. Todos os critérios são

graduados em ausente, leve, moderado e grave. O SCORAD tem a seguinte classificação conforme a pontuação final dos critérios: leve (SCORAD <25), moderado (>25 e <50) e grave (>50).

A seguir figuras ilustrativas da graduação dos critérios retiradas do artigo que validou o SCORAD como escala de gravidade (Figuras 3-5)(Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993).

**Figura 3 – Exemplificação dos critérios eritema e edema/papulação utilizados no SCORAD**



Fonte: Consenso SCORAD do *European Task Force* de dermatite atópica (Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993). As imagens 1, 2 e 3 demonstram a graduação do eritema, sendo a primeira leve, a segunda moderada e a terceira grave. As imagens 4, 5 e 6 graduaam o edema e papulação da mesma forma.

**Figura 4 – Exemplificação dos critérios exsudação e crostas do SCORAD**



Fonte: Consenso SCORAD do *European Task Force* de dermatite atópica.(Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993) As imagens 7, 8 e 9 representam a graduação leve, moderada e grave, respectivamente.

**Figura 5 – Exemplificação dos critérios Escoriação e Liquenificação do SCORAD**



Fonte: Consenso SCORAD do *European Task Force* de dermatite atópica.(Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993) As imagens 10, 11 e 12 representam escoriação e suas graduações. As imagens 13, 14 e 15, liquenificação leve, moderada e grave, respectivamente.

Os exames microbiológicos foram todos processados no Laboratório Mont’Serrat. A coleta de secreção nasal e lesional (Anexo V e VI) foi por *swab* estéril, realizada em sentido horário nas duas fossas nasais, em casos e controles. Nos pacientes do grupo caso, com lesões ativas de eczema atópico, a

coleta de material foi através de alça descartável, em uma das lesões cutâneas. O material coletado através de alça descartável foi inoculado imediatamente em placa de cultura de ágar sangue pelo pesquisador. Logo após, as placas de ágar sangue foram levadas, ao laboratório para cultivo em estufa e posterior identificação do *Staphylococcus aureus*.

Após o cultivo, foi feita a identificação do *S.aureus*, pelo teste da coagulase, O teste da coagulase é realizado pela inoculação em tubo de ensaio com 0,3ml de plasma de coelho, a mesma quantidade de material da colônia. O tempo necessário para haver a reação de aglutinação é de duas horas, numa temperatura de 37°C. O teste foi considerado positivo para *S. aureus* quando ocorreu a coagulação do plasma, realizado por enzima presente no microrganismo.

Todos os pacientes foram submetidos à coleta de sangue no laboratório do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para verificação dos níveis séricos de 25 OH vitamina D. A análise sérica foi realizada através de imunoensaio quimioluminescente.

Os valores de referência recomendados pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia utilizados em nosso estudo são: Deficiência: <20ng/ml, Insuficiência: 20-29,9ng/ml, Suficiência:>30ng/ml (Maeda *et al.*, 2014).

## 6.9 Análise Estatística

Os dados coletados foram armazenados num banco de dados e analisados com programa SPSS® versão 20 (Statistical Package for Social Science). Para realizar a análise descritiva, foi utilizado média e desvio-

padrão, além de frequências absolutas e relativas. A normalidade das variáveis contínuas foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. Os casos e controles foram comparados com a utilização do teste t de Student nas variáveis contínuas e do qui-quadrado para as categóricas.

ANOVA para comparação de médias de amostras independentes e o teste t de Student foram utilizados para comparar os níveis de vitamina D entre as características dos pacientes e da amostra total (tabela 2).

Foi realizado uma regressão linear múltipla através do modelo linear generalizado para controle de vieses na análise de VD e do SCORAD com as variáveis que obtiveram valores de  $P < 0,20$  nas análises preliminares. As variáveis independentes incluídas no modelo de análise da VD foram: sexo, faixa etária, fototipo, grupo de estudo e estações climáticas do ano. As variáveis do SCORAD foram: colonização nasal e lesional por *S. aureus*, número de ciclos de antibióticos no último ano e de internações devido a DA, além da renda familiar. Foi também calculado o coeficiente de correlação linear entre as variáveis quantitativas VD e SCORAD. Em todas as análises foi considerado nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 7. RESULTADOS

Um total de 202 crianças e adolescentes, de 2 a 18 anos de idade, moradores da zona urbana de Porto Alegre e sua região metropolitana foi incluído no estudo. A população de nossa amostra foi formada por 102 casos e 100 controles. Os pacientes foram recrutados no ambulatório e na internação do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre durante o período de janeiro de 2016 até junho de 2017.

A média de idade do grupo de casos foi de 8 anos, e no controle, 10,68 anos. O fototipo com maior número de representantes foi o III, com 30 % da população total. As características demográficas dos grupos estão expostas na Tabela 1.

A avaliação do peso e altura, através do escore Z do IMC, mostrou elevada porcentagem de sobrepeso/obesidade em ambos os grupos (42,3%), porém com predomínio no grupo dos atópicos (51% e  $p=0,01$ ). Já a análise da vitamina D quando correlacionado com os diferentes escores Z do IMC, não apresentou significância estatística, ( $p= 0,16$ ).

Observamos que 69,6% dos pacientes com DA apresentaram níveis deficientes/insuficientes de vitamina D, sendo os menores níveis nas estações climáticas do inverno e da primavera. No grupo controle encontramos 77% das crianças e adolescentes com níveis deficientes/insuficientes. Entretanto, a coleta de 81% dos controles, foi nos meses de inverno e primavera, em que há menores níveis de VD devido a estação. Nesse mesmo período, 56,9% dos casos foram arrolados.

A diferença de média de VD da população total da amostra entre a estação inverno e verão foi de quase 10ng/ml, sendo no inverno 21,84ng/ml e no verão 31,61ng/ml (Tabela 2).

**Tabela 1 – Características demográficas da amostra de crianças com dermatite atópica e controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA. (n=202)**

	<i>Casos n (%)</i>	<i>Controles n (%)</i>
<b><i>Sexo</i></b>		
<i>Feminino</i>	54 (52.9)	61 (61)
<b><i>Fototipo</i></b>		
<i>I</i>	5 (4.9)	4 (4)
<i>II</i>	14 (13.7)	21 (21)
<i>III</i>	29 (28.4)	33 (33)
<i>IV</i>	30 (29.4)	24 (24)
<i>V</i>	24 (23.5)	18 (18)
<b><i>Faixa Etária</i></b>		
<i>2-4 anos</i>	33 (32.4)	18 (18)
<i>5-11 anos</i>	40 (39.2)	26 (26)
<i>12-18 anos</i>	29 (28.4)	56 (56)
<b><i>Escolaridade dos Pais</i></b>		
<i>&lt;12 anos de estudo</i>	58 (56.8)	60 (60)
<i>Médio Completo/ Sup incompleto</i>	29 (28.4)	21 (21)
<i>Superior Completo</i>	15 (14.7)	19 (19)
<b><i>Renda Familiar Mensal</i></b>		
<i>Até 1000 reais</i>	37 (36.2)	15 (15)
<i>1000 -3000 reais</i>	39 (38.2)	44 (44)
<i>Mais de 3000 reais</i>	26 (25.5)	41 (41)
<b><i>Estação do Ano</i></b>		
<i>Verão</i>	27 (26.5)	4 (4)

<i>Outono</i>	17 (16.7)	15 (15)
<i>Inverno</i>	25 (24.5)	61 (61)
<i>Primavera</i>	33 (32.4)	20 (20)

O grupo dos atópicos, era composto por 21,2% de pacientes com DA leve, 54,5% DA moderada e 24,2% com DA grave, classificados através do escore SCORAD. Os níveis de VD entre os grupos de diferentes gravidades da doença não apresentaram diferença estatística ( $p=0,9$ ). As médias de VD foram 24,75ng/ml na DA leve, 26,42ng/ml na moderada e 24,45ng/ml na grave.

Os pacientes foram avaliados quanto a gênero, idade, fototipo, renda mensal familiar, nível de instrução dos pais, escore Z para avaliar peso e altura proporcionais a sua idade, estação do ano da avaliação, e verificação da colonização por *S.aureus* na cavidade nasal. Dentre todos esses fatores avaliados isoladamente, encontrou-se associação com menores níveis de VD o sexo feminino, a faixa etária dos 12 aos 18 anos e as estações do ano, como inverno e primavera,  $p<0,05$ . No grupo DA, esses mesmos fatores foram confirmados na análise, além da colonização lesional positiva para *S.aureus* que também demonstrou associação com menores níveis de VD ( $p<0,05$ ) (Tabela 2).

A análise após controle de prováveis confundidores, através do modelo linear generalizado, confirmou as seguintes associações com baixos níveis de vitamina D em todo o grupo: sazonalidade, faixa etária e dermatite atópica (Tabela 3).

A média estimada de VD do grupo caso após a correção dos vieses foi de 25,51ng/ml, com intervalo de confiança (IC) de 24,04 a 26,97. A média estimada do grupo controle foi de 27,87ng/ml, com IC de 26,05 a 29,68. Essa diferença de médias teve significância de 0,049. A média estimada de VD da população geral após

aplicação do modelo generalizado para cada estação foi: verão 32,08ng/ml, com IC (29,22 - 34,82), outono 27,74 com IC (25,15-30,33), inverno 22,05ng/ml com IC (20,39-23,72) e primavera 24,93 ng/ml com IC (22,90- 26,97),  $p < 0,001$  (Tabela 3).

Outro modelo de análise generalizada linear foi construído para avaliar o grupo dos atópicos isoladamente e sua relação com os níveis de vitamina D. A análise confirmou associação de níveis menores de VD com sazonalidade e faixa etária. As estações climáticas inverno e primavera estão relacionadas com menores níveis e também a faixa etária de 12-18 anos. Os demais fatores como colonização lesional positiva por *S. aureus* e maiores escores de gravidade no SCORAD não confirmaram sua ligação com diminuição da VD.

**Tabela 2 – Comparação dos níveis de vitamina D da amostra de crianças com dermatite atópica e dos controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA (n=202) continua**

	<i>CASOS</i> Vitamina D (ng/ml) Média ± desvio padrão	<i>CONTROLES</i> Vitamina D (ng/ml) Média ± desvio padrão	<i>POPULAÇÃO TOTAL</i> Vitamina D (ng/ml) Média ± desvio padrão
<b>Geral</b>	25,52 ± 8,95	24,37 ± 8,02	24,95 ± 8,50
<b>Sexo</b>			(p=0,047)
<i>Feminino</i>	23,23 ± 7,43	24,46 ± 7,69	23,88 ± 7,56
<i>Masculino</i>	28,09 ± 9,85	24,22 ± 8,60	26,36 ± 9,46
<b>Faixa Etária</b>	(p=0,001)		(p=0,001)
2-4 anos	25,83 ± 9,25	27,15 ± 10,21	26,29 ± 9,52
5-11 anos	28,69 ± 9,20	24,68 ± 8,99	27,11 ± 9,26
12-18 anos	20,79 ± 5,97	23,33 ± 6,56	22,46 ± 6,44
<b>Fototipo</b>	(p=0,24)		(p=0,58)
I	22,70 ± 7,03	25,40 ± 10,96	23,90 ± 8,47
II	23,50 ± 6,29	25,71 ± 7,24	24,83 ± 6,87
III	28,52 ± 11,52	24,30 ± 7,36	26,27 ± 9,46
IV	25,49 ± 8,99	23,93 ± 7,15	24,80 ± 8,19
V	23,69 ± 7,05	23,27 ± 10,78	23,51 ± 8,73
<b>Estação do Ano</b>	(p=0,000)		(p=0,000)
Verão	31,37 ± 10,19	33,30 ± 7,75	31,61 ± 9,82

<i>Outono</i>	26,15± 7,64	28,95± 10,17	27,46± 8,88
<i>Inverno</i>	19,78± 6,55	22,68± 6,64	21,84± 6,71
<i>Primavera</i>	24,76±7,19	24,29± 8,22	24,58±7,52
<b>Swab Nasal</b>	(p=0,78)		(p=0,53)
<i>Positivo</i>	24,19± 8,72	22,93± 6,94	23,82±8,13
<i>Negativo</i>	24,79± 8,42	24,57± 8,27	24,61±8,28

**Tabela 2 – Comparação dos níveis de vitamina D da amostra de crianças com dermatite atópica e dos controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA (n=202) conclusão**

<i>Swab Lesional</i>	(p=0,022)
<i>Positivo</i>	21,27± 6,76
<i>Negativo</i>	25,64± 8,90
<i>Uso de Antibiótico no Último Ano</i>	(p=0,66)
<i>Sim</i>	24,91± 8,61
<i>Não</i>	25,75± 9,12

Significância estatística,  $p < 0,05$ .

**Tabela 3 – Análise dos Fatores Associados à Deficiência de Vitamina D em Todos os Participantes através de Modelo Linear Generalizado**

<i>Variáveis</i>	<i>Wald Qui-Quadrado</i>	<i>Gl</i>	<i>Significância</i>
<i>Sexo</i>	2,57	1	0,108
<i>Faixa Etária</i>	11,64	2	0,003
<i>Estação do Ano</i>	38,43	3	0,000
<i>Grupo DA</i>	3,87	1	<b>0,049</b>

DA: Dermatite atópica Gl: Grau de liberdade

A média geral do SCORAD encontrada foi de 38,75, sendo mais elevada nos meses de inverno e primavera, 41,41 e 40,15, respectivamente, quando comparados ao verão, 34,27, e outono 39,61. Entretanto, não foi encontrada associação estatística significativa entre essas variáveis.

Maiores níveis de SCORAD estão associados com presença de colonização das lesões de DA por *Staphylococcus aureus* e utilização de antibióticos no último ano, com  $p < 0,05$  (Tabela 4).

**Tabela 4 – Análise dos Fatores Associados ao Aumento do Escore de Gravidade da Dermatite Atópica (SCORAD)**

<b>Variáveis</b>	<b>Wald Qui-Quadrado</b>	<b>Gl</b>	<b>Significância</b>
<b>Colonização Nasal</b>	1,283	1	,257
<b>Colonização Lesional</b>	10,369	1	,001
<b>Uso de Antibiótico Último ano</b>	15,886	1	,000
<b>Internação hospitalar por DA</b>	,779	1	,377
<b>Renda Familiar</b>	1,206	1	,272

DA: Dermatite atópica Gl: Grau de liberdade

Com o objetivo de avaliarmos a possível correlação entre diferentes níveis de SCORAD e níveis de VD, foi realizado teste de correlação de Pearson, mas não foi encontrada associação significativa entre essas duas variáveis, com  $r = -0,123$  e  $p = 0,22$ .

## 8. DISCUSSÃO

A vitamina D, hormônio lipossolúvel, produzida em sua grande maioria na pele, contribui de maneira importante na regulação da homeostase do cálcio e na imunorregulação. Quantidades deficientes ou insuficientes de VD influenciam diretamente o queratinócito, células formadoras da barreira cutânea, e suas funções.

Existem grandes controvérsias sobre os padrões de normalidade da VD na população pediátrica, sendo necessária a realização de estudos com maior abrangência e maior número de participantes para estabelecer seus critérios de normalidade. Entretanto, mesmo sem critérios de normalidade totalmente definidos, muito tem se estudado e discutido as influências da VD em diferentes doenças, sendo a dermatite atópica uma delas. Postula-se que os níveis diminuídos de AMP, a desregulação imune e alteração da permeabilidade da barreira cutânea, presentes na DA possam estar relacionados com esta hipovitaminose.

Estudos observacionais realizados com o objetivo de demonstrar essa associação, apresentaram resultados controversos quanto aos níveis de VD na população. Alguns, como esperado, encontraram correlação inversa de seus níveis com a gravidade da doença. Entretanto, outros não replicaram estes achados. O presente trabalho encontrou associação de níveis menores de VD em pacientes com dermatite atópica, quando comparados com grupo controle, mas sem correlação inversa com a gravidade da doença.

Alguns fatores analisados apresentaram associação com menores níveis de VD, mas que não se confirmaram na análise final, após ajustes dos fatores de confusão, são

eles: sexo feminino e presença de colonização pela bactéria *Staphylococcus aureus* nas lesões de eczema da dermatite atópica.

*Godar et al* em 2001, ao estudar crianças e adolescentes norte-americanos encontrou níveis mais baixos de VD no sexo feminino, provavelmente por hábitos comportamentais diferentes entre os sexos(*Godar, 2001*). Em nosso estudo também encontramos uma tendência de diferença entre os gêneros, mas não se confirmou após ajustes de vieses. Provavelmente, uma amostra com maior número de participantes seja necessária para essa diferença entre os sexos ser demonstrada.

A colonização do *S.aureus* no eczema, habitualmente, está presente em momentos de piora clínica dos pacientes com DA. Além disso, é comum a doença agravar-se no inverno, estação do ano que a VD está mais baixa(*Kim et al., 2017*). É sabido que os AMPs recebem estímulo da VD e que protegem a pele da infecção por *S.aureus*. Todavia não encontramos associação entre menores níveis de VD e aumento da presença do *S. aureus* nas lesões cutâneas.

Outros fatores analisados no estudo foram: faixa etária e estação climática, esses demonstraram associação com menores níveis de VD, independente do grupo, tanto em casos, como em controles, em todas as análises.

Ao avaliarmos a faixa etária, adolescentes apresentaram menores índices de 25(OH)D quando comparados com crianças menores de 12 anos. É possível que essa diferença se deva ao comportamento dos adolescentes, que preferem atividades em ambientes fechados, enquanto crianças ainda preferem estar ao ar livre. Os achados foram similares aos de *Godar et al*, que, ao avaliarem crianças e adolescentes americanos, demonstraram padrões comportamentais de exposição solar diferenciados de acordo com as idades, o que justifica menores índices de VD nos

adolescentes(Godar, 2001). Contudo, não há estudos semelhantes no Brasil, que avaliem os horários e o tempo de exposição solar nas diferentes faixas etárias.

Em ambos os grupos, a sazonalidade foi o maior influenciador da VD. Sabidamente nos meses de inverno há menor penetração da radiação UVB na atmosfera terrestre, as pessoas cobrem uma maior superfície corporal com vestimentas, além de se exporem menos ao sol, optando por atividades em ambientes fechados devido ao frio(Premaor e Furlanetto, 2006; Godar *et al.*, 2012). Todos esses fatores propiciam menores níveis de VD no inverno e primavera e maiores no verão e outono. Estudo realizado com 7437 britânicos acompanhados em uma coorte do nascimento aos 45 anos, mostrou o pico de vitamina D no final do verão, com média de 30ng/ml, e menor nível ao terminar o inverno, 14 ng/ml, demonstrando a grande influência da sazonalidade(Hyppönen e Power, 2007).

No presente trabalho a variação da vitamina D durante as diferentes estações do ano ficou bem definida, apresentando menores valores no inverno e primavera e mais elevados no verão e outono, ( $p=0,000$ ). Devido a essa potente influência sazonal e o fato de a inclusão dos casos e controles não ter sido equilibrada entre as estações, tornou-se necessário o ajuste estatístico através da aplicação de modelo linear visando o controle dos confundidores. Essa análise ajustada permitiu que a diferença de VD entre os grupos pudesse ser demonstrada, 25,51ng/ml nos atópicos e 27,87ng/ml nos controles, ( $p=0,049$ ).

Estudos mostram que os pacientes com dermatite atópica apresentam piora clínica e sintomática nos meses do inverno e primavera(Kim *et al.*, 2017). Agentes estressores externos presentes nestas estações climáticas, como a diminuição da temperatura, a baixa umidade relativa do ar e a menor exposição à radiação solar são

possíveis responsáveis por piorar a barreira cutânea, proporcionando o aumento dos sintomas. Questiona-se se o agravamento da doença, habitual do inverno estaria associado à diminuição dos níveis de VD típicos da estação.

Camargo *et al* avaliaram, em 2014, exatamente os pacientes que apresentavam a sua DA relacionada ao inverno e os suplementaram com vitamina D, obtendo melhora clínica significativa (Camargo *et al.*, 2014). Maiores estudos clínicos intervencionistas necessitam ser realizados para melhor explorar essa associação, além do possível benefício terapêutico da suplementação com a vitamina D nessa população, no inverno.

Em relação ao fototipo, a amostra demonstrou uma tendência de menores níveis de VD nos grupos mais extremos, tanto no fototipo V, quanto no I e II. Provavelmente por razões diferentes: o fototipo elevado, pela maior dificuldade de absorção de VD, e os fototipos menores por evitar a exposição solar ou pelo maior uso de filtros solares. Fototipos I e II devido à pele muito branca apresentam maior risco de queimadura e câncer de pele, ocasionando maiores cuidados. Estudo realizado em Boston, em 1982, por Clemens *et al*, comparou a produção de vitamina D em homens, com fototipo II e afrodescendentes de fototipo V, quando expostas à mesma quantidade de radiação UVB em uma cama de bronzamento artificial. Adultos com fototipo II apresentaram elevação de mais de 30 vezes nos níveis de VD; naqueles com fototipo V não ocorreu elevação significativa (Clemens *et al.*, 1982).

Os parâmetros de peso e altura, avaliados através do escore Z, não apresentaram diferença estatística entre os grupos quanto aos níveis de VD. Todavia, observamos que toda a amostra apresentou elevado percentual de sobrepeso/obesidade, 42,3% das crianças e adolescentes da população geral do estudo, corroborando com dados atuais da sociedade brasileira de pediatria que vem alertando quanto ao aumento da obesidade

infantil em nosso meio. O aumento da proporção de crianças e adolescentes com sobrepeso/obesidade pode estar colaborando para os dados atuais de deficiência/insuficiência encontrados em tantos estudos da atualidade, tal como em adultos.

Estudos mostram que níveis séricos mais baixos de vitamina D são encontrados naqueles portadores de obesidade(Lagunova *et al.*, 2009), pois o tecido adiposo serve como local de depósito de vitamina D, mas não biodisponibilizado facilmente na corrente sanguínea. Worstman *et al* realizaram estudo comparando indivíduos obesos e não obesos quanto à produção de VD após a exposição à radiação UVB. Eles verificaram que os obesos não obtiveram o mesmo aumento dos níveis de 25(OH)D sérico que os não obesos, como se a vitamina D desaparecesse dentro do tecido adiposo e não se tornasse imediatamente biodisponível(Worstman *et al.*, 2000). A elevada proporção de sobrepeso/obesidade de nossa amostra pode ser um dos motivos para a média geral de vitamina D estar em nível de deficiência.

A complexidade da relação da dermatite atópica e a VD ainda não foi completamente elucidada. O embasamento teórico da influência da 25(OH)D melhorando a barreira cutânea e o combate a infecções, é bem estabelecido. Contudo, nos trabalhos clínicos essa associação nem sempre consegue ser demonstrada, provavelmente, devido à dificuldade do controle dos possíveis fatores influenciadores dos níveis de VD.

## 9. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir que, na população estudada:

- Os níveis de VD são estatisticamente inferiores nos pacientes com dermatite atópica em relação aos controles não atópicos.

- Os níveis de vitamina D apresentaram-se deficientes ou insuficientes em grande parte de nossa população, incluindo casos e controles. Sazonalidade e faixa etária mostraram-se importantes modificadores dos valores séricos de vitamina D de nossa amostra.

- A associação de menores níveis de VD com maior gravidade da doença, demonstrada em outros estudos, como possível influenciador da piora da doença, não foi evidenciada.

- Apesar de termos encontrado elevado número de atópicos com colonização positiva para *S. aureus*, isso não se mostrou associado com menores níveis de VD.

Estudos observacionais, como o presente, são apenas geradores de hipótese. Logo, faz-se necessário continuar investigando o tema e realizar trabalhos prospectivos e intervencionistas. Sugere-se a realização de um estudo avaliador da capacidade de produção de VD através da pele do atópico, comparado a um grupo controle saudável, para elucidar melhor esta controversa associação. Seria necessário o pareamento de fatores de risco independentes: sexo, faixa etária, IMC, fototipo e estações climáticas. A capacidade de produção poderia ser estudada através da exposição da pele a determinada dose de radiação e posterior medição da VD sanguínea.

Conclui-se que o estudo de fatores associados à dermatite atópica é de suma importância para melhor compreensão desta doença. A sua relação com níveis de vitamina D persiste carente de pesquisas mais definitivas.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDOR, F. A.; AOKI, V. Skin barrier in atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 2, p. 184-94, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20520934> >.

ALBENALI, L. H. et al. Vitamin D and antimicrobial peptide levels in patients with atopic dermatitis and atopic dermatitis complicated by eczema herpeticum: A pilot study. **J Allergy Clin Immunol**, v. 138, n. 6, p. 1715-1719.e4, Dec 2016. ISSN 1097-6825. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27523434> >.

BIKLE, D. D. Vitamin D and the skin: Physiology and pathophysiology. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 13, n. 1, p. 3-19, Mar 2012. ISSN 1573-2606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21845365> >.

BYREMO, G.; RØD, G.; CARLSEN, K. H. Effect of climatic change in children with atopic eczema. **Allergy**, v. 61, n. 12, p. 1403-10, Dec 2006. ISSN 0105-4538. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17073869> >.

CAMARGO, C. A. et al. Randomized trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in children. **J Allergy Clin Immunol**, v. 134, n. 4, p. 831-

835.e1, Oct 2014. ISSN 1097-6825. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25282565>>.

CHEON, B. R. et al. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and interleukin-31 levels, and the severity of atopic dermatitis in children. **Korean J Pediatr**, v. 58, n. 3, p. 96-101, Mar 2015. ISSN 1738-1061. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25861332>>.

CHIU, Y. E. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration does not correlate with atopic dermatitis severity. **J Am Acad Dermatol**, v. 69, n. 1, p. 40-6, Jul 2013. ISSN 1097-6787. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23415685>>.

CLAUSEN, M. L. et al. In Vivo Expression of Antimicrobial Peptides in Atopic Dermatitis. **Exp Dermatol**, Aug 2015. ISSN 1600-0625. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26269388>>.

CLEMENS, T. L. et al. Measurement of circulating vitamin D in man. **Clin Chim Acta**, v. 121, n. 3, p. 301-8, Jun 1982. ISSN 0009-8981. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6286167>>.

D'AURIA, E. et al. Vitamin D status and body mass index in children with atopic dermatitis: A pilot study in Italian children. **Immunol Lett**, v. 181, p. 31-35, Jan 2017. ISSN 1879-0542. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27838470>>.

DAVEIGA, S. P. Epidemiology of atopic dermatitis: a review. **Allergy Asthma Proc**, v. 33, n. 3, p. 227-34, 2012 May-Jun 2012. ISSN 1539-6304. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22584191> >.

DONG, Y. et al. Low 25-hydroxyvitamin D levels in adolescents: race, season, adiposity, physical activity, and fitness. **Pediatrics**, v. 125, n. 6, p. 1104-11, Jun 2010. ISSN 1098-4275. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20439594> >.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch Dermatol**, v. 124, n. 6, p. 869-71, Jun 1988. ISSN 0003-987X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3377516> >.

GILABERTE, Y. et al. Correlation Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and Virulence Genes of Staphylococcus aureus Isolates Colonizing Children with Atopic Dermatitis. **Pediatr Dermatol**, Dec 2014. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25491017> >.

GODAR, D. E. UV doses of American children and adolescents. **Photochem Photobiol**, v. 74, n. 6, p. 787-93, Dec 2001. ISSN 0031-8655. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11783934> >.

GODAR, D. E. et al. Solar UV doses of young Americans and vitamin D3 production. **Environ Health Perspect**, v. 120, n. 1, p. 139-43, Jan 2012. ISSN 1552-9924.

Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21852226> >.

HATA, T. R. et al. A randomized controlled double-blind investigation of the effects of vitamin D dietary supplementation in subjects with atopic dermatitis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 28, n. 6, p. 781-9, Jun 2014. ISSN 1468-3083. Disponível em: <

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638978> >.

HEPBURN, L. et al. The complex biology and contribution of Staphylococcus aureus in atopic dermatitis, current and future therapies. **Br J Dermatol**, v. 177, n. 1, p. 63-71,

Jul 2017. ISSN 1365-2133. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27779765> >.

HIGAKI, S. et al. Comparative study of staphylococci from the skin of atopic dermatitis patients and from healthy subjects. **Int J Dermatol**, v. 38, n. 4, p. 265-9, Apr

1999. ISSN 0011-9059. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10321941> >.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7,

p. 1911-30, Jul 2011. ISSN 1945-7197. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21646368> >.

HYPPÖNEN, E.; POWER, C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 3, p. 860-8, Mar 2007. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17344510> >.

JINNESTÅL, C. L. et al. Skin barrier impairment correlates with cutaneous Staphylococcus aureus colonization and sensitization to skin-associated microbial antigens in adult patients with atopic dermatitis. **Int J Dermatol**, v. 53, n. 1, p. 27-33, Jan 2014. ISSN 1365-4632. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23879225> >.

JUNGERSTED, J. M. et al. Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. **Allergy**, v. 65, n. 7, p. 911-8, Jul 2010. ISSN 1398-9995. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20132155> >.

KIM, M. et al. Seasonal variation and monthly patterns of skin symptoms in Korean children with atopic eczema/dermatitis syndrome. **Allergy Asthma Proc**, v. 38, n. 4, p. 294-299, Jul 2017. ISSN 1539-6304. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28668109> >.

KIM, M. J. et al. Vitamin D Status and Efficacy of Vitamin D Supplementation in Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 8, n. 12, Dec 2016. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27918470> >.

KUNZ, B. et al. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. **Dermatology**, v. 195, n. 1, p. 10-9, 1997. ISSN 1018-8665. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9267730> >.

LAGUNOVA, Z. et al. The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. **Anticancer Res**, v. 29, n. 9, p. 3713-20, Sep 2009. ISSN 1791-7530. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19667169> >.

MAEDA, S. S. et al. Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabology (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 58, n. 5, p. 411-33, Jul 2014. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25166032> >.

MANZONI, A. P. et al. Assessment of the quality of life of pediatric patients with the major chronic childhood skin diseases. **An Bras Dermatol**, v. 87, n. 3, p. 361-8, 2012 May-Jun 2012. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22714749> >.

MESQUITA, K. E. C.; IGREJA, A. C.; COSTA, I. M. Atopic dermatitis and vitamin D: facts and controversies. **An Bras Dermatol**, v. 88, n. 6, p. 945-53, 2013 Nov-Dec 2013. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474104> >.

MUTGI, K.; KOO, J. Update on the role of systemic vitamin D in atopic dermatitis. **Pediatr Dermatol**, v. 30, n. 3, p. 303-7, 2013 May-Jun 2013. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22957498> >.

ORGANIZATION, W. H. **WHO Child Growth Standards: Length/Height-for-Age, Weight-for-Age, Weightfor-Length, Weight-for-Height and Body Mass Index-forAge: Methods and Development.** WHO. Geneva 2006.

PERONI, D. G. et al. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and severity of atopic dermatitis in children. **Br J Dermatol**, v. 164, n. 5, p. 1078-82, May 2011. ISSN 1365-2133. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087229> >.

PETRY, V. et al. Bacterial skin colonization and infections in patients with atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 87, n. 5, p. 729-34, 2012 Sep-Oct 2012. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23044566> >.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. [Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 1, p. 25-37, Feb 2006. ISSN 0004-2730. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16628272> >.

RAMOS E SILVA M., C. M. **Fundamentos de Dermatologia.** 1º edição. Rio de Janeiro: Editora Ateneu, 2009.

ROBL, R. et al. Serum Vitamin D Levels Not Associated with Atopic Dermatitis Severity. **Pediatr Dermatol**, v. 33, n. 3, p. 283-8, May 2016. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26862046> >.

ROIDER, E.; RUZICKA, T.; SCHAUBER, J. Vitamin d, the cutaneous barrier, antimicrobial peptides and allergies: is there a link? **Allergy Asthma Immunol Res**, v. 5, n. 3, p. 119-28, May 2013. ISSN 2092-7355. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638309> >.

SCHAUBER, J.; GALLO, R. L. The vitamin D pathway: a new target for control of the skin's immune response? **Exp Dermatol**, v. 17, n. 8, p. 633-9, Aug 2008. ISSN 1600-0625. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18573153> >.

Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. **Dermatology**, v. 186, n. 1, p. 23-31, 1993. ISSN 1018-8665. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8435513> >.

THIEDEN, E. et al. Vitamin D level in summer and winter related to measured UVR exposure and behavior. **Photochem Photobiol**, v. 85, n. 6, p. 1480-4, 2009 Nov-Dec 2009. ISSN 1751-1097. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19709382> >.

THOMSEN, S. F. et al. Importance of genetic factors in the etiology of atopic dermatitis: a twin study. **Allergy Asthma Proc**, v. 28, n. 5, p. 535-9, 2007 Sep-Oct 2007. ISSN 1088-5412. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18034971> >.

VAN ETTEN, E.; MATHIEU, C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 97, n. 1-2, p. 93-101, Oct 2005. ISSN 0960-0760. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16046118> >.

VESTITA, M. et al. Vitamin D and atopic dermatitis in childhood. **J Immunol Res**, v. 2015, p. 257879, 2015. ISSN 2314-7156. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973433> >.

WACKER, M.; HOLICK, M. F. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. **Dermatoendocrinol**, v. 5, n. 1, p. 51-108, Jan 2013. ISSN 1938-1972. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24494042> >.

WANG, S. S. et al. Vitamin D deficiency is associated with diagnosis and severity of childhood atopic dermatitis. **Pediatr Allergy Immunol**, v. 25, n. 1, p. 30-5, Feb 2014. ISSN 1399-3038. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24383670> >.

WEIDINGER, S.; NOVAK, N. Atopic dermatitis. **Lancet**, Sep 2015. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26377142> >.

WEILAND, S. K. et al. Climate and the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinitis, and atopic eczema in children. **Occup Environ Med**, v. 61, n. 7, p. 609-15, Jul 2004. ISSN 1470-7926. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208377>>.

WORTSMAN, J. et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 3, p. 690-3, Sep 2000. ISSN 0002-9165. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10966885>>.

## ANEXO I

### HCPA - SERVIÇO DE DERMATOLOGIA - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CASOS

#### AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA

A dermatite atópica é uma doença de pele muito comum, principalmente nas crianças. Ela pode causar desde quadros leves e até casos graves que possam precisar de internação hospitalar. Sabe-se que em algumas pessoas é uma doença de difícil controle, muitas vezes cursando com quadros de infecções repetidas na pele.

Os estudos mostram que a vitamina D está envolvida na proteção da pele contra infecções e aumento da capacidade de reconstituição da pele. Nesta pesquisa estudaremos os níveis da vitamina D no sangue e a presença de uma bactéria chamada *Staphylococcus aureus* nas lesões da pele e narinas das crianças com dermatite atópica. A investigação desses fatores tem como objetivo aumentarmos o conhecimento sobre a doença para melhorarmos o manejo dos pacientes.

A participação da pessoa pela qual você é responsável será através de uma entrevista e uma avaliação física, estimada em até uma hora de duração, uma coleta de sangue para verificar a vitamina D, deve-se estar pelo menos com quatro horas de jejum no dia da coleta (se você não possuir os exames necessários no seu prontuário). No mesmo dia da entrevista também será realizado um *swab* nasal (contato de um instrumento plástico, estéril e flexível delicadamente com suas narinas) e outro *swab* lesional (contato de um instrumento plástico, estéril e flexível delicadamente na sua pele, onde estiver com lesão de dermatite atópica).

**Benefícios:** Ao participar desse estudo a pessoa pela qual você é responsável terá avaliação de sua doença e fará exames de possíveis fatores relacionados a ela.

**Riscos:** Os riscos e desconfortos associados ao estudo são mínimos, pois apenas requerem entrevista, exame físico, uma coleta de sangue e duas coletas de *swab*. A coleta de sangue é feita como uma coleta usual. Entretanto algumas pessoas podem apresentar tonturas, pequeno desconforto no momento da picada da agulha e podem

desenvolver pequenos hematomas (machas roxas na pele) no local da punção.

A coleta do *swab* é feita pela introdução de um instrumento plástico, estéril e flexível, chamado de haste de coleta, nas duas narinas. Essa “haste” será passada delicadamente na sua lesão de dermatite atópica também. Algumas pessoas podem sentir pequeno desconforto no momento da coleta nasal.

Uso de fotografias: durante o estudo, poderão ser tiradas fotografias, para fins de registro das lesões da pele. Estas imagens servirão para ilustrar os resultados do estudo em publicações ou apresentações científicas. O pesquisador poderá publicar, circular ou apresentar as fotografias em meios com finalidades científicas, sozinhas ou acompanhadas de materiais escritos, impressos, gráficos ou áudio, para médicos, enfermeiras, farmacêuticos e profissionais relacionados, preservando integralmente os dados pessoais de identificação e, em caso de fotografias da face, descaracterizando a identidade.

( ). Autorizo ao pesquisador, o direito de usar as fotografias, nas condições mencionadas

( ). Não autorizo o uso das fotografias.

Se você decidir não autorizar a pessoa pela qual você é responsável a participar ou desistir de participar em qualquer etapa do estudo, não haverá prejuízo no seu atendimento. Sua participação é voluntária. Não está previsto qualquer tipo de pagamento pela participação no estudo, e o participante não terá nenhum tipo de custo com os procedimentos envolvidos.

A assinatura, neste consentimento informado, dará autorização ao pesquisador do estudo para utilizar os dados obtidos quando se fizerem necessários e somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Eu,.....

Assino e identifico este documento como responsável pelo paciente

\_\_\_\_\_, declaro ter recebido explicação clara

e completa sobre a pesquisa acima mencionada. Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

.....  
 Assinatura do Responsável Data

.....  
 Nome do pesquisador Assinatura

Dr<sup>a</sup> Tania Cestari (pesquisadora responsável)

Dr<sup>a</sup> Larissa Rodrigues Leopoldo (CRM 31909)

Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

Porto Alegre,..... de... .. de 201.....

## ANEXO II

### HCPA - SERVIÇO DE DERMATOLOGIA - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLES

#### AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA

A dermatite atópica é uma doença de pele muito comum, principalmente nas crianças. Ela pode causar desde quadros leves até casos graves que possam precisar de internação hospitalar. Sabe-se que em algumas pessoas é uma doença de difícil controle, muitas vezes cursando com quadros de infecções repetidas na pele.

Os estudos mostram que a vitamina D está envolvida na proteção da pele contra infecções e aumento da capacidade de reconstituição da pele. Nesta pesquisa estudaremos os níveis da vitamina D no sangue e a colonização pela bactéria chamada *Staphylococcus aureus* nas lesões da pele e narinas das crianças com dermatite atópica. A investigação desses fatores tem como objetivo aumentarmos o conhecimento sobre a doença para melhorarmos o manejo dos pacientes.

A pessoa pela qual você é responsável está sendo convidado a participar do estudo no grupo controle, ou seja, ele/ela **não** tem dermatite atópica. Nesta investigação, vamos avaliar o nível de vitamina D no sangue e pesquisar a presença da bactéria *Staphylococcus aureus* nas narinas, com o objetivo de compararmos com o grupo de pacientes que tem dermatite atópica.

A participação da pessoa pela qual você é responsável será através de uma entrevista e uma avaliação física, estimada em até uma hora de duração, uma coleta de sangue para verificar a vitamina D, em que ele (a) deve estar pelo menos com quatro horas de jejum (se você não possuir os exames necessários no seu prontuário). No mesmo dia da entrevista também será realizado um *swab* nasal (contato delicado de um instrumento chamado haste de coleta nas suas narinas, ele é plástico, estéril e flexível).

**Benefícios:** Ao participar desse estudo, a pessoa pela qual você é responsável terá avaliação da sua pele e fará exame sanguíneo de vitamina D.

**Riscos:** Os riscos e desconfortos associados ao estudo são mínimos, pois apenas requerem entrevista, exame físico, coleta de sangue e *swab*. A coleta de sangue é feita como uma coleta usual. Entretanto algumas pessoas podem apresentar tonturas,

pequeno desconforto no momento da picada da agulha e podem desenvolver pequenos hematomas (machas roxas na pele) no local da punção.

A coleta do *swab* é feita pela introdução e contato delicado e indolor de um instrumento chamado haste de coleta na parte da frente das narinas. Algumas pessoas podem ter leve desconforto na coleta.

Se você decidir não autorizar a participação da pessoa pela qual você é responsável, ou desistir da participação em qualquer etapa do estudo, não haverá prejuízo no atendimento dela. A participação é voluntária. Não está previsto qualquer tipo de pagamento pela participação no estudo, e o participante não terá nenhum tipo de custo com os procedimentos envolvidos.

A assinatura, neste consentimento informado, dará autorização ao pesquisador do estudo para utilizar os dados obtidos quando se fizerem necessários e somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Eu,....., responsável pelo paciente \_\_\_\_\_, assino e identifico este documento, declaro ter recebido explicação clara e completa sobre a pesquisa acima mencionada. Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

.....  
Assinatura do Responsável Data

.....  
Nome do pesquisador Assinatura

Dr<sup>a</sup> Tania Cestari (pesquisadora responsável)

Dr<sup>a</sup> Larissa Rodrigues Leopoldo (CRM 31909)

Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

Porto Alegre,..... de... ..... de 201.....

### ANEXO III

#### HCPA - SERVIÇO DE DERMATOLOGIA - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CRIANÇAS MAIORES DE 7 ANOS E ADOLESCENTES- CASOS

#### AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA

Olá, estou pesquisando sobre a vitamina D e a dermatite atópica. Essa doença inflamatória da pele é bem comum nas crianças e causa lesões vermelhas na pele que dão muita coceira. Queremos saber se as pessoas que tem dermatite atópica possuem vitamina D mais baixa no sangue e se isso pode piorar a doença. Além disso vamos ver também se quem tem dermatite atópica tem maior presença de uma bactéria chamada *Staphylococcus aureus* no nariz e na pele, mais do que quem não tem a doença. O *Staphylococcus aureus* é um ‘germe’ que causa muitas doenças nas pessoas. Achamos que essa pesquisa pode nos ajudar a descobrir isso.

Eu vou informar você e convidá-lo a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você quiser participar na pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem. Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir à vontade de conversar. Pode haver algumas palavras difíceis de entender, por favor peça que lhe explicarei.

Essa pesquisa está sendo feita para descobrirmos se as pessoas que tem dermatite atópica apresentam vitamina D mais baixa no sangue, e se possuem a bactéria *Staphylococcus aureus* no nariz e na pele mais do que as outras pessoas que não tem dermatite atópica.

Estamos medindo a vitamina D no sangue e verificando a presença da bactéria no nariz e pele das crianças e adolescentes com dermatite atópica, mas também nas que

não tem dermatite atópica com o objetivo de comparar os dois grupos. Você está sendo convidado para participar porque você tem dermatite atópica.

Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu tratamento de saúde. Mesmo assim, este serviço de saúde estará disponível para você. Até mesmo se quiser agora, poderá mudar de ideia depois, sem nenhum problema.

A sua participação vai ser numa conversa e irei olhar a sua pele. Depois vou encostar de maneira delicada um instrumento de plástico na sua narina, mas não você não vai ter dor. Um outro instrumento igual vou encostar na sua pele, também não vai causar dor. Após essa conversa você vai coletar sangue no laboratório, talvez você tenha um pouquinho de dor, mas tentaremos que seja o menor possível. Algumas vezes surge um hematoma (roxo) no lugar onde foi coletado o sangue, mas logo passará.

Participando da pesquisa poderemos descobrir se a sua vitamina D no sangue está abaixo do normal e poderemos lhe ajudar nisso. Além disso você vai estar nos ajudando a sabermos mais sobre a sua doença.

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalha na pesquisa. Após a pesquisa lhe falarei os resultados dos seus exames também. Você não receberá qualquer tipo de pagamento por participar deste estudo, e também não terá que pagar por nenhum destes exames que serão realizados.

Você não tem que estar nesta pesquisa. Ninguém estará furioso ou desapontado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer " sim " agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem.

Se você tiver dúvidas poderá me perguntar agora ou depois. Eu escrevi um número de telefone e endereço onde você pode nos localizar.

Eu entendi que participarei de uma pesquisa sobre dermatite atópica e que terei minha pele examinada, farei exame de sangue e exame com cotonete no meu nariz e pele.

Assinatura da criança/adolescente:

---

Assinatura dos pais/responsáveis:

---

Ass. do Pesquisador:

---

Dia/mês/ano: \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador

Assinatura

Dr<sup>a</sup> Tania Cestari (pesquisadora responsável)

Dr<sup>a</sup> Larissa Rodrigues Leopoldo (CRM 31909)

Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

#### ANEXO IV

### HCPA - SERVIÇO DE DERMATOLOGIA - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CRIANÇAS MAIORES DE 7 ANOS E ADOLESCENTES- CONTROLES

#### AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINA D E COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM PACIENTES COM DERMATITE ATÓPICA

Olá, estamos pesquisando sobre a vitamina D e a dermatite atópica, uma doença inflamatória da pele bem comum nas crianças que causa lesões vermelhas na pele e muita coceira. Queremos saber se as pessoas que tem esse problema na pele possuem vitamina D mais baixa no sangue, e se isso pode piorar a doença. Além disso vamos ver também se quem tem dermatite atópica tem uma bactéria chamada *Staphylococcus aureus* no nariz e na pele mais do que aqueles que não tem a doença. O *Staphylococcus aureus* é um ‘germe’ que causa muitas doenças nas pessoas. Achamos que essa pesquisa pode nos ajudar a descobrir isso.

Vamos informar você e convidá-lo a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar, ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você vai participar na pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem. Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir à vontade de conversar. Pode haver algumas palavras que não entenda, por favor peça que lhe explicarei.

Essa pesquisa está sendo feita para descobrirmos se as pessoas que tem dermatite atópica apresentam vitamina D mais baixa no sangue e se tem *Staphylococcus aureus* no nariz e na pele mais do que as outras pessoas que não tem dermatite atópica.

Estamos medindo a vitamina D no sangue e verificando a presença da bactéria no nariz e pele das crianças e adolescentes com dermatite atópica, mas também nas que não tem dermatite atópica com o objetivo de comparar os dois grupos. Você está sendo convidado para participar porque você **NÃO** tem dermatite atópica.

Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu tratamento de saúde. Mesmo assim, este serviço de saúde estará disponível para você. Até mesmo se quiser agora, poderá mudar de ideia depois, sem nenhum problema. Você não receberá qualquer tipo de pagamento por participar deste estudo, e também não terá que pagar por nenhum destes exames que serão realizados.

A sua participação vai ser numa conversa e irei olhar a sua pele. Depois vou encostar de maneira delicada um instrumento de plástico na sua narina, mas não você não vai ter dor. Após essa conversa você vai coletar sangue no laboratório, talvez você tenha um pouquinho de dor, mas tentaremos que seja o menor possível. Algumas vezes surge um hematoma (roxo) no lugar onde foi coletado o sangue, mas logo passará.

Participando da pesquisa poderemos descobrir se a sua vitamina D no sangue está abaixo do normal e poderemos lhe ajudar nisso. Além disso você vai estar nos ajudando a sabermos mais sobre a dermatite atópica.

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalha na pesquisa. Após a pesquisa lhe falarei os resultados dos seus exames também.

Você não tem que estar nesta pesquisa. Ninguém estará furioso ou desapontado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer " sim " agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem.

Se você tiver dúvidas poderá me perguntar agora ou depois. Eu escrevi um número de telefone e endereço onde você pode nos localizar.

Eu entendi que participarei de uma pesquisa sobre dermatite atópica e que terei minha pele examinada, farei exame de sangue e exame com cotonete no meu nariz.

Assinatura da criança/adolescente:

---

Assinatura dos pais/responsáveis:

---

Ass. do Pesquisador:

---

Dia/mês/ano: \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador

Assinatura

Dr<sup>a</sup> Tania Cestari (pesquisadora responsável)

Dr<sup>a</sup> Larissa Rodrigues Leopoldo (CRM 31909)

Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

**ANEXO V****Protocolo dos Casos****Nome do paciente:****Prontuário:****Fone:****Data:**

1. **Idade** (anos completos) ( )
2. **Data de nascimento:**
3. **Sexo** ( ) 1. Feminino 2. Masculino
4. **Grau de escolaridade** ( ) 1. Ensino Fundamental incompleto 2. Fundamental completo 3. Médio completo 4. Médio incompleto 5. Superior incompleto 6. Superior completo
5. **Renda Familiar** ( ) 1. até R\$ 500,00 2. R\$ 500,00 -1000,00 3. R\$ 1000,00 a 3000,00 4. >R\$ 3000,00
6. **Asma:** ( ) 1.Sim 2. Não
7. **Rinite Alérgica:** ( ) 1.Sim 2. Não
8. **Histórico Familiar de Dermatite Atópica:** ( ) 1.Sim 2. Não
9. **Idade na primeira consulta por dermatite atópica:** ( ) Anos completos
10. **Teve que tomar antibiótico devido a dermatite atópica no último ano?** ( )  
1.Sim 2. Não
11. **Número de ciclos de antibiótico para dermatite atópica no último ano:**( )
12. **Teve internação devido a dermatite atópica durante a vida?** ( ) 1.Sim 2. Não

**Exame físico**

- 13. Peso:** Kg
- 14. Altura:** m
- 15. IMC:**
- 16. Fototipo Fitzpatrick:** ( ) 1. I 2. II 3. III 4. IV 5. V
- 17. Xerodermia:** ( ) 1. Sim 2. Não
- 18. Presença de Eczema:** ( ) 1. Sim 2. Não
- 19. Sinais Clínicos de Infecção na Placa Eczematosa:** ( ) 1. Sim 2. Não
- 20. SCORAD:**
- 21. Swab Nasal:** ( ) 1. Positivo para S. aureus 2. Negativo para S.aureus
- 22. Local do Swab Lesional:** ( ) 1. Face 2. Membros superiores 3. Membros inferiores
- 23. Swab Lesional:** ( ) 1. Positivo para S. aureus 2. Negativo para S.aureus
- 24. Nível Sérico de vitamina D:**

**Anexo VI**  
**Protocolo para Controles**

**Nome do paciente:**

**Prontuário:**

**Fone:**

**Data:**

1. **Idade** (anos completos) ( )
2. **Data de nascimento:**
3. **Sexo** ( ) 1. Feminino 2. Masculino
4. **Grau de escolaridade** ( ) 1. Ensino Fundamental incompleto 2. Fundamental completo 3. Médio completo 4. Médio incompleto 5. Superior incompleto 6. Superior completo
5. **Renda Familiar** ( ) 1. até R\$ 500,00 2. R\$ 500,00 -1000,00 3. R\$ 1000,00 a 3000,00 4. >R\$ 3000,00
6. **Asma:** ( ) 1. Sim 2. Não
7. **Rinite Alérgica:** ( ) 1. Sim 2. Não
8. **Histórico familiar de dermatite atópica:** ( ) 1. Sim 2. Não
9. **Comorbidades Dermatológicas:** ( ) 1. Sim 2. Não
10. **Comorbidades Dermatológicas:** ( ) 1. Psoríase 2. Vitiligo 3. Alopecia Areata 4. Líquen Plano 5. Dermatite seborreica 6. Outras.  
Quais? \_\_\_\_\_

**Exame Físico**

11. **Peso:** Kg
12. **Altura:** m
13. **IMC:**
14. **Fototipo Fitzpatrick:** ( ) 1. I 2. II 3. III 4. IV 5. V
15. **Swab Nasal:** ( ) 1. Positivo para S. aureus 2. Negativo para S.aureus
16. **Nível Sérico de vitamina D:**

Anexo VII

SCORAD

**SCORAD**  
EUROPEAN TASK FORCE  
ON ATOPIC DERMATITIS

Last Name  First Name

Date of Birth:     DD/MM/YY

Date of Visit:

INSTITUTION

PHYSICIAN

**Topical Steroid used:**

Potency (brand name)

Amount / Month

Number of flares / Month

45 (8.5)

45 18 45

9 9

45 (8.5)

45 18 45

(6) 9 9 (6)

Figures in parentheses for children under two years

**A: EXTENT** : Please indicate the area involved

**B: INTENSITY**

CRITERIA	INTENSITY
Erythema	
Edema/Papulation	
Crusting/ooze	
Excoration	
Lichenification	
Dryness *	

**MEANS OF CALCULATION**

INTENSITY ITEMS (average representative area)

0= absence

1= mild

2= moderate

3= severe

\* Dryness is evaluated on uninvolved areas

**C: SUBJECTIVE SYMPTOMS**  
PRURITUS+SLEEP LOSS

**SCORAD**  $A/5+7B/2+C$

Visual analog scale (average for the last 3 days or nights)

PRURITUS (0 to 10)  0  10

SLEEP LOSS (0 to 10)  0  10

TREATMENT:

REMARKS:

## **Avaliação dos Níveis de Vitamina D e Colonização por *Staphylococcus aureus* em Pacientes com Dermatite Atópica**

L Leopoldo, T Cestari

### **RESUMO**

**Objetivos:** Avaliar os níveis de vitamina D (VD) e índices de colonização nasal em pacientes com dermatite atópica (DA) e controles e correlacioná-los com a gravidade da doença. Verificar os índices de colonização cutânea lesional por *Staphylococcus aureus* nos atópicos correlacionando-os com a VD sérica. **Métodos:** Estudo transversal com grupo controle em uma população de ambos os sexos, com idades entre 2 e 18 anos, moradoras de zona urbana de Porto Alegre, cidade localizada no Brasil, na latitude 30°S. Os níveis séricos de 25(OH)D e esfregaço nasal foram realizados em toda a amostra. Já nos atópicos, esfregaço cutâneo lesional também foi coletado. Os participantes foram classificados quanto a sexo, idade, fototipo, peso, altura e nível socioeconômico dos pais. Nos atópicos, a gravidade da doença foi avaliada através do SCORAD. **Resultados:** Participaram do estudo 202 crianças e adolescentes, sendo 102 com dermatite atópica e 100 controles. Na população total foi encontrado que 73,3% tinham níveis de deficiência/insuficiência de vitamina D, apresentando médias de VD nos meses de inverno de 22,05ng/ml e no verão de 32,02ng/ml ( $p=0,000$ ). Entre as faixas etárias, foram encontrados menores níveis (22,46ng/ml) nos adolescentes entre 12-18 anos. Já nas crianças, de 2-4 anos, foi de 26,29ng/ml, e nas de 5- 11 anos, 27,11ng/ml, ( $p<001$ ). As médias de VD de pacientes atópicos e controles saudáveis, foram 25,51ng/ml e 27,7ng/ml, respectivamente ( $p=0,049$ ). Não foi encontrada correlação entre a gravidade da doença e níveis de VD. **Conclusões:** Os pacientes com dermatite atópica apresentaram VD sérica menor quando comparados aos controles. Não houve associação entre os níveis de VD e gravidade da doença ou colonização por *S. aureus*.

**Palavras-chave:** Dermatite Atópica, Vitamina D, *Staphylococcus aureus*.

## Introdução

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica resultante de alterações imunológicas, de disfunção na barreira cutânea e de interações da pele com o meio-ambiente (Addor e Aoki, 2010). Atópicos apresentam, usualmente, maior predisposição para infecções cutâneas, sendo o *Staphylococcus aureus* o principal agente etiológico envolvido, representando grande impacto no controle da doença (Petry *et al.*, 2012; Gilaberte *et al.*, 2014). Em indivíduos com barreira cutânea fisiologicamente normal os peptídeos antimicrobianos (AMPs) produzidos pelos queratinócitos, conferem proteção contra microrganismos como o *S.aureus* (Petry *et al.*, 2012).

Sabe-se que a vitamina D (VD) tem funções reguladoras na pele, tais como a inibição da proliferação celular, o estímulo da diferenciação dos queratinócitos e a produção de AMPs (Mesquita *et al.*, 2013; Mutgi e Koo, 2013). Partindo do princípio que estas funções estão alteradas nos atópicos e que há uma potencial influência da VD, a realização de estudos para estabelecer essa possível relação fica justificada (Roider *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2016; Robl *et al.*, 2016).

Peroni *et al* estudaram 37 crianças com DA, cuja gravidade foi avaliada através do SCORAD e procuraram estabelecer a correlação com os níveis de VD. Os autores encontraram valores mais elevados da vitamina em pacientes com doença leve ( $p < 0.05$ ), quando comparados aos casos moderados ou graves. (Peroni *et al.*, 2011) Gilaberte *et al*, investigaram a associação das colonizações por *S.aureus* nasal e cutânea lesional e os níveis de VD, relacionando com a gravidade da DA. A colonização nasal associou-se significativamente com a lesional e também com baixos níveis de VD (Gilaberte *et al.*, 2014).

Este estudo se propõe a investigar os níveis de VD em crianças com dermatite atópica e controles de mesma faixa etária, correlacionando-os com a gravidade da doença, além de avaliar a colonização nasal e cutânea lesional por *S. aureus*.

## Materiais e Métodos

Estudo transversal com pacientes de ambos os sexos, de 2 a 18 anos de idade, 102 deles com DA e 100 controles com outras doenças dermatológicas. Foi realizado em uma cidade do Sul do Brasil, latitude 30°. Os pacientes eram provenientes do ambulatório de dermatologia de um hospital terciário.

O diagnóstico de DA, conforme critérios de *Hanifin e Rajka* foi obrigatório para inclusão dos casos. Os critérios de exclusão para ambos os grupos foram: suplementação com VD, corticoterapia oral ou fototerapia nos últimos 3 meses, antibioticoterapia no último mês e diagnóstico de doenças da queratinização ou doenças sistêmicas concomitantes. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição e todos os participantes e seus responsáveis foram esclarecidos sobre os aspectos da pesquisa, tendo assinado termo de consentimento para sua realização.

Todos os indivíduos preencheram questionário para os dados demográficos, sua pele e mucosas foram examinadas pelo dermatologista e foram classificados quanto a sexo, idade, fototipo, segundo escala de *Fitzpatrick*(*Fitzpatrick, 1988*), peso, altura, escolaridade dos pais e renda familiar mensal. Todos tiveram seu índice de massa corporal (IMC) estratificado através do escore Z. Foram coletados esfregaços nasais para identificação de *S. aureus* e coleta de sangue para verificação de níveis de VD, através de quimioluminescência, em todos os pacientes e controles. Nos atópicos também foi realizada a aplicação de escala de gravidade SCORAD e *swab* cutâneo lesional para pesquisa do *S.aureus*

A avaliação do SCORAD classifica a DA em leve (SCORAD <25), moderada (>25 e <50) e grave (>50)(Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993). Os níveis de VD foram considerados conforme valores de referência da Sociedade Americana de Endocrinologia como: deficiência:<20ng/ml, insuficiência:21-29,9ng/ml, e suficiência:>30ng/ml(*Holick et al., 2011*).

A coleta de secreção nasal e cutâneo lesional foi por *swab* estéril e realizada nas duas fossas nasais, nos casos e nos controles. No grupo DA, foi coletado material de uma das lesões cutâneas, através de alça descartável. O material foi inoculado

imediatamente em placa de cultura ágar sangue, cultivado em estufa para posterior identificação do *S. aureus* pelo teste da coagulase.

Os dados coletados foram armazenados num banco de dados e analisados com programa SPSS® versão 20 (Statistical Package for Social Science). Para realizar a análise descritiva, foi utilizada a média e desvio-padrão, além de frequências absolutas e relativas. A normalidade das variáveis contínuas foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. Os casos e controles foram comparados com a utilização do teste t de Student nas variáveis contínuas e do qui-quadrado para categóricas.

ANOVA para comparação de médias de amostras independentes e o teste t de Student foram utilizados para comparar os níveis de vitamina D entre as características dos pacientes e da amostra total (tabela 2). Foi ainda realizado regressão linear múltipla através do modelo linear generalizado para controle de vieses na análise de VD e do SCORAD com as variáveis que obtiveram valores de  $P < 0,20$  nas análises preliminares. As variáveis independentes incluídas no modelo de análise da VD foram: sexo, faixa etária, fototipo, grupo de estudo e estações climáticas do ano. As variáveis do SCORAD foram: colonização nasal e lesional por *S. aureus*, número de ciclos de antibióticos no último ano e de internações devido a DA, além da renda familiar. Foi também calculado o coeficiente de correlação linear entre as variáveis quantitativas VD e SCORAD. Em todas as análises foi considerado nível de significância de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Um total de 202 participantes, 102 casos e 100 controles, com 2 a 18 anos de idade, moradores de zona urbana, participaram do estudo. Todos eram acompanhados em hospital terciário do Sul do Brasil e a coleta dos dados transcorreu de janeiro de 2016 até junho de 2017.

A média de idade do grupo DA foi 8 anos e do controle, 10,68 anos. As características demográficas dos grupos estão expostas na tabela 1.

A avaliação do peso e altura, através do escore Z do IMC, mostrou elevada porcentagem de sobrepeso/obesidade em ambos os grupos (42,3%), porém com predomínio no grupo dos atópicos (51% e  $p=0,01$ ). Já a análise da vitamina D quando cotejado com diferentes escores Z do IMC, não apresentou significância estatística, ( $p=0,16$ ).

Observamos que 69,6% dos casos apresentaram níveis deficientes ou insuficientes de vitamina D, sendo mais baixos durante o inverno e primavera. Nos controles, 77% mostravam valores deficientes ou insuficientes. Entretanto, a coleta de 81% dos controles, ocorreu nos meses de inverno e primavera, em que se observa menores níveis de VD devido à estação. No mesmo período, 56,9% dos casos foram arrolados.

No grupo dos atópicos, 21,2% apresentavam doença leve, 54,5% moderada e 24,2% grave, conforme SCORAD, com médias de VD de 24,75ng/ml, 26,42ng/ml e 24,45ng/ml, respectivamente ( $p=0,9$ ).

Encontrou-se associação de menores níveis de VD com os seguintes fatores: sexo feminino, faixa etária entre 12 e 18 anos, colonização lesional positiva para *S.aureus* e sazonalidade ( $p<0,05$ ).

A análise, após aplicação do modelo linear generalizado, em todo o grupo confirmou associação de baixos níveis de VD com sazonalidade, faixa etária e DA (Tabela 3).

A média estimada de VD dos casos após a correção foi de 25,51ng/ml, (IC 24,04-26,97), a dos controles foi 27,87ng/ml (IC 26,05-29,68), ( $p=0,049$ ). A média estimada de VD da população geral após a aplicação do modelo generalizado para cada estação foi: verão 32,08ng/ml, (IC 29,22-34,82), outono 27,74 (IC 25,15-30,33), inverno 22,05ng/ml (IC 20,39-23,72) e primavera 24,93 ng/ml (IC 22,90- 26,97),  $p=0,000$ . (Tabela 3).

A associação da sazonalidade (inverno e primavera), e da faixa etária (12-18 anos) com VD em menores níveis, foi confirmada após análise controlada no grupo dos atópicos. Os demais fatores, colonização lesional positiva por *S. aureus* e maior gravidade no SCORAD, não se confirmaram.

Em relação à gravidade da doença, a média do SCORAD foi 38,75. As maiores medidas foram no inverno e na primavera, 41,41 e 40,15, respectivamente, quando comparadas ao verão, 34,27, e ao outono 39,61, sem diferença estatística. Maiores escores de SCORAD foram associados com a presença de colonização das lesões cutâneas por *S. aureus* e utilização de antibióticos no último ano ( $p<0,05$ ).

## Discussão

Muito tem sido estudado sobre as influências da vitamina D em diferentes doenças, sendo a dermatite atópica uma delas. Estudos realizados com o objetivo de demonstrar essa associação apresentaram resultados controversos. Alguns encontraram correlação inversa dos níveis de VD com a gravidade da doença (Peroni *et al.*, 2011). Entretanto, outros não acharam essa mesma associação (Robl *et al.*, 2016). O presente estudo encontrou associação de níveis menores de VD em pacientes com DA, quando comparados com controles, mas sem correlação inversa com a gravidade da doença.

Sexo feminino e presença de colonização cutânea lesional se mostraram associados a menores níveis de VD na análise inicial, mas essa associação não foi confirmada na análise final após ajustes dos fatores de confusão.

Godar *et al.*, ao estudarem crianças e adolescentes norte-americanos, encontraram níveis mais baixos de VD nas meninas, provavelmente por hábitos comportamentais diferentes entre os sexos (Godar, 2001). Em nosso meio encontramos uma tendência semelhante de diferença entre os gêneros. Entretanto, este achado não se confirmou após ajustes de vieses. Possivelmente, uma amostra com maior número de participantes seja necessária para essa diferença entre os sexos ser demonstrada.

A colonização do *S.aureus* no eczema, habitualmente, está presente em momentos de piora clínica dos pacientes com DA. Além disso, é comum a doença agravar-se no inverno, estação do ano que a VD está mais baixa (Kim *et al.*, 2017). É sabido que os AMPs recebem estímulo da VD e que protegem a pele da infecção por *S.aureus*. Todavia não encontramos associação entre menores níveis de VD e aumento da presença do *S. aureus* nas lesões cutâneas.

Outros fatores analisados no estudo, faixa etária e sazonalidade, associaram-se com valores mais baixos de VD, independente do grupo, em todas as análises. Quando avaliarmos a faixa etária, adolescentes apresentaram menores índices de 25(OH)D quando comparados com crianças menores de 12 anos. É possível que essa diferença se deva ao comportamento dos adolescentes, que preferem atividades em ambientes fechados, enquanto crianças ainda preferem estar ao ar livre. Os achados foram similares aos de Godar *et al.*, que, ao avaliarem crianças e adolescentes americanos, demonstraram padrões comportamentais de exposição solar diferenciados de acordo

com as idades, o que justifica menores índices de VD nos adolescentes(Godar, 2001). Contudo, não há estudos semelhantes no Brasil, que avaliem os horários e o tempo de exposição solar nas diferentes faixas etárias.

Em ambos os grupos, sazonalidade foi o maior influenciador da VD. Sabidamente, no inverno há menor penetração da radiação UVB na atmosfera terrestre, as pessoas cobrem uma maior superfície corporal com vestimentas, além de se exporem menos à radiação solar ao optarem por atividades em locais fechados(Premaor e Furlanetto, 2006; Godar *et al.*, 2012). Todos esses fatores propiciam menores níveis de VD no inverno e maiores no verão. Um estudo de coorte realizado com 7437 britânicos mostrou o pico de VD no final do verão, com média 30ng/ml, e menor nível ao terminar o inverno, 14 ng/ml, demonstrando a grande influência da sazonalidade(Hyppönen e Power, 2007).

No presente trabalho a variação da vitamina D durante as diferentes estações do ano ficou bem definida, apresentando menores valores no inverno e primavera e mais elevados no verão e outono, ( $p=0,000$ ). Devido a essa potente influência sazonal e o fato de a inclusão dos casos e controles não ter sido equilibrada entre as estações, tornou-se necessário o ajuste estatístico através da aplicação de modelo linear visando o controle desses confundidores. Essa análise ajustada permitiu que a diferença de VD entre os grupos pudesse ser demonstrada, 25,51ng/ml nos atópicos e 27,87ng/ml nos controles, ( $p=0,049$ ).

Estudos mostram que os pacientes com DA apresentam piora clínica no inverno e primavera(Kim *et al.*, 2017). Agentes estressores externos presentes nestas estações, como a diminuição da temperatura, a baixa umidade relativa do ar e a menor exposição à radiação solar são possíveis responsáveis por deteriorar a barreira cutânea, proporcionando o aumento dos sintomas. Questiona-se se o agravamento da doença, habitual do inverno estaria associado à diminuição dos níveis de VD típicos da estação.

Camargo *et al* avaliaram os pacientes com DA relacionada ao inverno e os suplementaram com vitamina D, obtendo melhora clínica significativa(Camargo *et al.*, 2014). Maiores estudos intervencionistas necessitam ser realizados para explorar o possível benefício terapêutico da suplementação nessa população no inverno.

A complexidade da relação da dermatite atópica e a VD ainda não foi completamente elucidada. O embasamento teórico da influência da 25(OH)D melhorando a barreira cutânea e o combate a infecções, é bem estabelecido. Contudo, nos trabalhos clínicos essa associação nem sempre consegue ser demonstrada, provavelmente, devido à dificuldade do controle dos possíveis fatores influenciadores dos níveis de VD.

### Conclusão

O presente estudo encontrou níveis de VD estatisticamente inferiores nos pacientes com DA em relação aos controles. Cabe ressaltar que os níveis de 25(OH)D apresentaram-se deficientes ou insuficientes em grande parte de nossa amostra e que demonstraram grande variação ao longo das estações climáticas. A associação de menores níveis de VD com maior gravidade da doença, demonstrada em outros estudos, não foi evidenciada. Apesar de termos elevado número de atópicos com colonização positiva para *S. aureus*, isso não se mostrou associado com menores níveis de VD.

**Tabela 1 - Características demográficas da amostra de crianças com dermatite atópica e controles de mesma faixa etária atendidas no Serviço de Dermatologia do HCPA. (n=202)**

	<i>Casos n (%)</i>	<i>Controles n (%)</i>
<b><i>Sexo</i></b>		
<i>Feminino</i>	54 (52.9)	61 (61)
<b><i>Fototipo</i></b>		
<i>I</i>	5 (4.9)	4 (4)
<i>II</i>	14 (13.7)	21 (21)
<i>III</i>	29 (28.4)	33 (33)
<i>IV</i>	30 (29.4)	24 (24)
<i>V</i>	24 (23.5)	18 (18)
<b><i>Faixa Etária</i></b>		
<i>2-4 anos</i>	33 (32.4)	18 (18)
<i>5-11 anos</i>	40 (39.2)	26 (26)

<i>12-18 anos</i>	29 (28.4)	56 (56)
<b><i>Escolaridade dos Pais</i></b>		
<i>&lt;12 anos de estudo</i>	58 (56.8)	60 (60)
<i>Médio Completo/ Superior incompleto</i>	29 (28.4)	21 (21)
<i>Superior Completo</i>	15 (14.7)	19 (19)
<b><i>Renda Familiar Mensal</i></b>		
<i>Até 1000 reais</i>	37 (36.2)	15 (15)
<i>1000 -3000 reais</i>	39 (38.2)	44 (44)
<i>Mais de 3000 reais</i>	26 (25.5)	41 (41)
<b><i>Estação do Ano</i></b>		
<i>Verão</i>	27 (26.5)	4 (4)
<i>Outono</i>	17 (16.7)	15 (15)
<i>Inverno</i>	25 (24.5)	61 (61)
<i>Primavera</i>	33 (32.4)	20 (20)

**Tabela 2 – Comparação dos níveis de vitamina D da amostra de crianças com dermatite atópica e dos controles de mesma faixa etária (n=202) continua**

	<b>CASOS</b>	<b>CONTROLES</b>	<b>POPULAÇÃO TOTAL</b>
	<i>Vitamina D (ng/ml)</i>	<i>Vitamina D (ng/ml)</i>	<i>Vitamina D (ng/ml)</i>
	<i>Média ± DP</i>	<i>Média ± DP</i>	<i>Média ± DP</i>
<b>Geral</b>	25,52 ± 8,95	24,37 ± 8,02	24,95 ± 8,50
<b>Sexo</b>			(p=0,047)
<i>Feminino</i>	23,23 ± 7,43	24,46 ± 7,69	23,88 ± 7,56
<i>Masculino</i>	28,09 ± 9,85	24,22 ± 8,60	26,36 ± 9,46
<b>Faixa Etária</b>	(p=0,001)		(p=0,001)
<i>2-4 anos</i>	25,83± 9,25	27,15± 10,21	26,29± 9,52
<i>5-11 anos</i>	28,69± 9,20	24,68± 8,99	27,11±9,26
<i>12-18 anos</i>	20,79± 5,97	23,33± 6,56	22,46±6,44
<b>Fototipo</b>	(p=0,24)		(p=0,58)

<i>I</i>	22,70± 7,03	25,40± 10,96	23,90± 8,47
<i>II</i>	23,50± 6,29	25,71± 7,24	24,83± 6,87
<i>III</i>	28,52± 11,52	24,30± 7,36	26,27± 9,46
<i>IV</i>	25,49± 8,99	23,93± 7,15	24,80± 81,19
<i>V</i>	23,69±7,05	23,27± 10,78	23,51± 8,73
<b>Estação do Ano</b>	(p=0,000)		(p=0,000)
<i>Verão</i>	31,37± 10,19	33,30± 7,75	31,61± 9,82
<i>Outono</i>	26,15± 7,64	28,95± 10,17	27,46± 8,88
<i>Inverno</i>	19,78± 6,55	22,68± 6,64	21,84± 6,71
<i>Primavera</i>	24,76±7,19	24,29± 8,22	24,58±7,52
<b>Swab Nasal</b>	(p=0,78)		(p=0,53)
<i>Positivo</i>	24,19± 8,72	22,93± 6,94	23,82±8,13
<i>Negativo</i>	24,79± 8,42	24,57± 8,27	24,61±8,28
<b>Swab Lesional</b>	(p=0,022)		
<i>Positivo</i>	21,27± 6,76		
<i>Negativo</i>	25,64± 8,90		
<b>Uso de Antibiótico no Último Ano</b>	(p=0,66)		

**Tabela 2 – Comparação dos níveis de vitamina D da amostra de crianças com dermatite atópica e dos controles de mesma faixa etária (n=202) conclusão**

<i>Sim</i>	24,91± 8,61
<i>Não</i>	25,75± 9,12

*Significância estatística, p<0,05, DP: desvio padrão*

**Tabela 3 – Análise dos Fatores Associados à Deficiência de Vitamina D em Todos os Participantes através de Modelo Linear Generalizado**

<i>Variáveis</i>	<i>Wald Qui-Quadrado</i>	<i>Gl</i>	<i>Significância</i>
<i>Sexo</i>	2,57	1	0,108
<i>Faixa Etária</i>	11,64	2	0,003
<i>Estação do Ano</i>	38,43	3	0,000
<i>Grupo DA</i>	3,87	1	<b>0,049</b>

DA: Dermatite atópica Gl: Grau de liberdade

### **Referências:**

ADDOR, F. A.; AOKI, V. Skin barrier in atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 2, p. 184-94, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1806-4841. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20520934>>.

CAMARGO, C. A. et al. Randomized trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in children. **J Allergy Clin Immunol**, v. 134, n. 4, p. 831-835.e1, Oct 2014. ISSN 1097-6825. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25282565>>.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch Dermatol**, v. 124, n. 6, p. 869-71, Jun 1988. ISSN 0003-987X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3377516>>.

GILABERTE, Y. et al. Correlation Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and Virulence Genes of Staphylococcus aureus Isolates Colonizing Children with Atopic Dermatitis. **Pediatr Dermatol**, Dec 2014. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25491017> >.

GODAR, D. E. UV doses of American children and adolescents. **Photochem Photobiol**, v. 74, n. 6, p. 787-93, Dec 2001. ISSN 0031-8655. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11783934> >.

GODAR, D. E. et al. Solar UV doses of young Americans and vitamin D3 production. **Environ Health Perspect**, v. 120, n. 1, p. 139-43, Jan 2012. ISSN 1552-9924. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21852226> >.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul 2011. ISSN 1945-7197. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21646368> >.

HYPPÖNEN, E.; POWER, C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 3, p. 860-8, Mar 2007. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17344510> >.

KIM, M. et al. Seasonal variation and monthly patterns of skin symptoms in Korean children with atopic eczema/dermatitis syndrome. **Allergy Asthma Proc**, v. 38, n. 4, p. 294-299, Jul 2017. ISSN 1539-6304. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28668109> >.

KIM, M. J. et al. Vitamin D Status and Efficacy of Vitamin D Supplementation in Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 8, n. 12, Dec 2016. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27918470> >.

MESQUITA, K. E. C.; IGREJA, A. C.; COSTA, I. M. Atopic dermatitis and vitamin D: facts and controversies. **An Bras Dermatol**, v. 88, n. 6, p. 945-53, 2013 Nov-Dec 2013. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474104> >.

MUTGI, K.; KOO, J. Update on the role of systemic vitamin D in atopic dermatitis. **Pediatr Dermatol**, v. 30, n. 3, p. 303-7, 2013 May-Jun 2013. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22957498> >.

PERONI, D. G. et al. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and severity of atopic dermatitis in children. **Br J Dermatol**, v. 164, n. 5, p. 1078-82, May 2011. ISSN 1365-2133. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087229> >.

PETRY, V. et al. Bacterial skin colonization and infections in patients with atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 87, n. 5, p. 729-34, 2012 Sep-Oct 2012. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23044566> >.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. [Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 1, p. 25-37, Feb 2006. ISSN 0004-2730. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16628272> >.

ROBL, R. et al. Serum Vitamin D Levels Not Associated with Atopic Dermatitis Severity. **Pediatr Dermatol**, v. 33, n. 3, p. 283-8, May 2016. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26862046> >.

ROIDER, E.; RUZICKA, T.; SCHAUBER, J. Vitamin d, the cutaneous barrier, antimicrobial peptides and allergies: is there a link? **Allergy Asthma Immunol Res**, v. 5, n. 3, p. 119-28, May 2013. ISSN 2092-7355. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638309> >.

Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. **Dermatology**, v. 186, n. 1, p. 23-31, 1993. ISSN 1018-8665. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8435513> >.

## Status of vitamin D and *Staphylococcus aureus* colonization in children and adolescents with atopic dermatitis

L Leopoldo, T Cestari

### Abstract

**Objectives:** To evaluate the levels of vitamin D (VD) and nasal colonization rates in patients with atopic dermatitis (AD) and controls, and to correlate them with the severity of the disease. To verify the rate of cutaneous lesion colonization by *Staphylococcus aureus* in atopics. **Methods:** This was a cross-sectional study with participants from both genders, aged between 2 and 18 years, living in the urban area in a southern Brazilian city, at latitude 30°. Serum levels of VD and nasal swab were obtained from each participant. In the atopics, a swab was also collected from the cutaneous lesion. The subjects were classified according to gender, age, phototype, weight, height, and socioeconomic level of the parents. AD severity was assessed through SCORAD. **Results:** Of the 202 participants who were assessed in this study, 102 had AD, and 100 controls. From the overall population, 73.3% had VD deficiency/insufficiency levels. Mean value of VD in the winter was 22.05 ng/ml and in the summer was 32.02 ng/ml ( $p < 0.001$ ). As per age group, lower levels (22.46 ng/ml) were found among adolescents aged 12–18 years. Among 2–4 years old, the level was 26.29 ng/ml, and among 5–11 years old, 27.11 mg/ml ( $p < 0.01$ ). The VD mean values from atopic patients and controls were 25.51 ng/ml and 27.7 ng/ml, respectively ( $p = 0.049$ ). No correlation was found between disease severity and VD levels. **Conclusions:** AD patients had lower serum VD levels compared to controls. There was no association between VD levels and disease severity or *S. aureus* colonization.

### Introduction

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory disease resulting from immunological changes, dysfunction in the skin barrier, and skin interactions with the environment (Addor e Aoki, 2010). Atopics usually have a greater predisposition to cutaneous infections. *Staphylococcus aureus* is the main etiological agent involved, and

is responsible for a great impact on the control of the disease(Petry *et al.*, 2012; Gilaberte *et al.*, 2014). In individuals with a physiologically normal skin barrier, antimicrobial peptides (AMPs) produced by keratinocytes confer protection against microorganisms such as *S.aureus*(Petry *et al.*, 2012).

Vitamin D (VD) is known to perform regulatory functions in the skin, like inhibition of cell proliferation, stimulation of keratinocyte differentiation, and production of AMP(Mesquita *et al.*, 2013; Mutgi e Koo, 2013). Assuming that these functions are altered in atopics and that there is a potential influence of VD, studies to establish this possible relationship are justified(Roider *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2016; Robl *et al.*, 2016).

Peroni *et al* studied 37 children with AD, whose severity was assessed through SCORAD, and sought to correlate it with VD levels. The authors found higher vitamin values in patients with mild disease ( $p<0.05$ ) compared to moderate or severe cases(Peroni *et al.*, 2011). Gilaberte *et al* investigated the association of colonizations of the nasal and cutaneous lesions and the VD levels, related to the severity of AD. Nasal colonization was significantly associated with skin colonization and low levels of VD(Gilaberte *et al.*, 2014).

This study aims to investigate the VD levels in atopics and controls of the same age group, and correlate them with the severity of the disease as well as evaluate the nasal and cutaneous colonization by *S. aureus*.

## **Materials and methods**

This is a cross-sectional study with patients of both genders, aged 2 years to 18 years. One hundred two have AD and 100 controls with other dermatological diseases. It was performed in a southern Brazilian city, latitude 30°. The patients were evaluated in a dermatology clinic of a tertiary hospital.

The diagnosis of AD according to *Hanifin and Rajka* criteria was mandatory for the inclusion of the cases. Exclusion criteria for both groups were: VD supplementation, oral corticosteroid therapy or phototherapy in the last three months, antibiotic therapy in the last month, and keratin disorders or concomitant systemic diseases. The research ethics committee of the institution approved the project, and all the participants and their supervisors signed an informed consent form.

All subjects were classified according to gender, age, skin type, *Fitzpatrick*(*Fitzpatrick, 1988*) scale, weight, height, parental education, and family income. Skin and mucous membranes were examined by a dermatologist. All had their body mass index (BMI) stratified according to Z score. Nasal swabs were collected for identification of *S. aureus*, and blood collection for verification of VD serum levels by chemiluminescence from both groups. In the atopics SCORAD gravity scale was performed and the cutaneous lesion swab for *S. aureus*.

The SCORAD score ranks AD as mild (SCORAD <25), moderate (>25 and <50), and severe (>50)(Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993). The VD levels were ranked according to the American Society of Endocrinology reference values as: deficiency: <20 ng/ml, insufficiency: 21-29.9 ng/ml, and sufficiency:> 30 ng ml(*Holick et al., 2011*).

The collection of nasal secretion was done by using sterile swab held in both nostrils, in both cases and controls. In the AD group, material from cutaneous lesions was collected through sterile disposable loop. The material was immediately inoculated into a blood agar culture plate and incubated in an oven. The identification of *S. aureus* was done by the coagulase test.

The data collected were stored in a database and analyzed with SPSS® software version 20 (Statistical Package for Social Science). To perform the descriptive analysis, we used the mean and standard deviation, in addition to absolute and relative frequencies. The Gaussian distribution of the continuous variables was evaluated through the Shapiro-Wilk test. The cases and controls were compared using Student t test with the continuous variables and the chi-square test for categorical.

ANOVA was used for the comparison of independent sample means while Student's t-test was used to compare VD levels between the patient's characteristics and the total sample (Table 2). Multiple linear regression was also performed through the generalized linear model to control bias in the VD, and SCORAD analysis in the variables with values of  $p < 0.20$  in the preliminary analyses. The independent variables included in the VD analysis model were: gender, age group, phototype, study group, and climatic seasons of the year. The SCORAD variables were: nasal and lesional colonization by *S. aureus*, amount of antibiotic usage in the last year, hospitalizations

due to AD, and family income. The linear correlation coefficient between the VD and SCORAD quantitative variables was also calculated. A significance level of  $p < 0.05$  was considered in all analyses.

## Results

A total of 202 patients participated in this study with 102 cases and 100 controls, aged 2 years old to 18 years old, and were urban dwellers. Data collection occurred from January 2016 to June 2017.

The mean age of the AD group was 8 years old, and 10.68 years old for the control. The baseline characteristics of the groups are shown in table 1.

The BMI evaluation according to Z-scores showed a high percentage of overweight/obesity in both groups (42.3%), but more pronounced in the atopic group (51% and  $p = 0.01$ ). However, the analysis between VD and with the different Z scores of BMI did not show statistical significance, ( $p = 0.16$ ).

We observed that 69.6% of the cases presented with deficient or insufficient VD levels with lower levels during the winter and spring. As with the controls, 77% showed poor or insufficient values. However, 81% of the controls were included during the winter and spring months when there is lower VD levels due to the season. In the same period, 56.9% of cases were enrolled.

In the atopic group, 21.2% presented with mild disease, 54.5% with moderate disease, and 24.2% with severe disease according to SCORAD with VD averages of 24.75 ng/ml, 26.42 ng/ml, and 24.45 ng/ml, respectively ( $p = 0.9$ ).

There was an association between lower VD levels with the following factors: female, age range of 12 and 18 years, positive skin colonization for *S. aureus* and seasonality ( $p < 0.05$ ).

After applying the generalized linear model throughout the group the analysis confirmed the association of low VD levels with seasonality, age, and AD group (Table 3). The estimated VD mean of the cases after the correction was 25.51 ng/ml, (CI 24.04-26.97); and 27.87 ng/ml (CI 26.05-29.68) in the control group ( $p = 0.049$ ). The general

estimated mean of VD after generalized model application for each season was: summer 32.08 ng/ml, (IC 29.22-34.82), autumn 27.74 ng/ml (IC 25.15-30.33), winter 22.05 ng/ml (IC 20.39-23.72) and spring 24.93 ng/ml (CI 22.90- 26.97),  $p < 0.001$ . (Table 3).

**Table 1 – Demographic characteristics of the sample of children with atopic dermatitis and controls.**

	<i>AD n (%)</i>	<i>Controls n (%)</i>
<i>Gender</i>		
<i>Female</i>	54 (52.9)	61 (61)
<i>Phototype</i>		
<i>I</i>	5 (4.9)	4 (4)
<i>II</i>	14 (13.7)	21 (21)
<i>III</i>	29 (28.4)	33 (33)
<i>IV</i>	30 (29.4)	24 (24)
<i>V</i>	24 (23.5)	18 (18)
<i>Age Group</i>		
<i>2-4 years</i>	33 (32.4)	18 (18)
<i>5-11 y</i>	40 (39.2)	26 (26)
<i>12-18 y</i>	29 (28.4)	56 (56)
<i>Parental Education</i>		
<i>&lt;12 y</i>	58 (56.8)	60 (60)
<i>High School completed</i>	29 (28.4)	21 (21)
<i>Graduated</i>	15 (14.7)	19 (19)
<i>Family Monthly income</i>		
<i>\$ &lt;330</i>	37 (36.2)	15 (15)
<i>\$ 330-900</i>	39 (38.2)	44 (44)
<i>\$ &gt;900</i>	26 (25.5)	41 (41)
<i>Seasons</i>		
<i>Summer</i>	27 (26.5)	4 (4)
<i>Autumn</i>	17 (16.7)	15 (15)
<i>Winter</i>	25 (24.5)	61 (61)
<i>Spring</i>	33 (32.4)	20 (20)

AD: atopic dermatitis

**Table 2 - Comparison of vitamin D levels between children with atopic dermatitis and controls (n=202)**

	<i>AD</i>	<i>CONTROLS</i>	<i>TOTAL SAMPLE</i>
	<i>Vitamin D (ng/ml)</i>	<i>Vitamin D (ng/ml)</i>	<i>Vitamin D (ng/ml)</i>
	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>
<b>General</b>	25.52 ± 8.95	24.37 ± 8.02	24.95 ± 8.50
<b>Gender</b>			(p=0.047)
<i>Female</i>	23.23 ± 7.43	24.46 ± 7.69	23.88 ± 7.56
<i>Male</i>	28.09 ± 9.85	24.22 ± 8.60	26.36 ± 9.46
<b>Age Group</b>	(p=0.001)		(p=0.001)
2-4 y	25.83± 9.25	27.15± 10.21	26.29± 9.52
5-11 y	28.69± 9.20	24.68± 8.99	27.11±9.26
12-18 y	20.79± 5.97	23.33± 6.56	22.46±6.44
<b>Phototype</b>	(p=0.24)		(p=0.58)
I	22.70± 7.03	25.40± 10.96	23.90± 8.47
II	23.50± 6.29	25.71± 7.24	24.83± 6.87
III	28.52± 11.52	24.30± 7.36	26.27± 9.46
IV	25.49± 8.99	23.93± 7.15	24.80± 8.1.19
V	23.69±7.05	23.27± 10.78	23.51± 8.73
<b>Seasons</b>	(p=0.000)		(p=0.000)
<i>Summer</i>	31.37± 10.19	33.30± 7.75	31,61± 9,82
<i>Autumn</i>	26.15± 7.64	28.95± 10.17	27,46± 8,88
<i>Winter</i>	19.78± 6.55	22.68± 6.64	21,84± 6,71
<i>Spring</i>	24.76±7.19	24.29± 8.22	24,58±7,52
<b>Nasal Swab</b>	(p=0.78)		(p=0.53)
<i>Positive</i>	24.19± 8.72	22.93± 6.94	23.82±8.13
<i>Negative</i>	24.79± 8.42	24.57± 8.27	24.61±8.28
<b>Lesional Skin Swab</b>	(p=0.022)		
<i>Positive</i>	21.27± 6.76		
<i>Negative</i>	25.64± 8.90		
<b>Antibiotics last year usage</b>	(p=0.66)		
<i>Yes</i>	24.91± 8.61		
<i>No</i>	25.75± 9.12		

SD: Standard deviation

The association of seasonality (winter and spring) and age (12-18 y) with VD at lower levels were confirmed after a controlled analysis in the atopic group. The other

factors such as positive lesion colonization by *S. aureus* and greater severity in SCORAD, were not confirmed.

Regarding the severity of the disease, the SCORAD mean was 38.75. The greatest measures were during the winter and spring with 41.41 and 40.15, respectively, compared to summer, 34.27, and autumn 39.61, without statistical difference. Higher SCORAD scores were associated with the presence of colonization of cutaneous lesions by *S. aureus* and use of antibiotics in the last year ( $p < 0.05$ ).

**Table 3 - Analysis of factors associated with vitamin D deficiency in all subjects through Generalized Linear Model**

	<i>Wald Chi Squared</i>	<i>Df</i>	<i>p</i>
<i>Sex</i>	2.57	1	0.108
<i>Age group</i>	11.64	2	0.003
<i>Season</i>	38.43	3	0.000
<i>AD</i>	3.87	1	<b>0.049</b>

Df: Degree of freedom AD: Atopic Dermatitis

## Discussion

Effects of VD on different diseases, including AD, have been studied by multiple groups. Studies about this association presented controversial results. Some found an inverse correlation between VD levels and disease severity (Peroni *et al.*, 2011). However, others did not find this same association (Robl *et al.*, 2016). The present study found an association of lower VD levels in patients with AD compared with controls, but without inverse correlation with disease severity.

Females and presence of skin lesion colonization were associated with lower VD levels in the initial analysis, but this association was not confirmed after adjusting the confounding factors.

Godar *et al.*, studied American children and adolescents and found lower levels of VD in girls, probably due to different behavioral habits between the genders(Godar, 2001). In our sample, we found a similar trend. However, this finding was not confirmed after bias adjustments. Possibly, a larger sample is necessary to demonstrate this difference between males and females.

Colonization of *S. aureus* in eczema is usually present during flare episodes in patients with AD. In addition, it is common that this disease will be more symptomatic during the winter, the season that VD level is lower(Kim *et al.*, 2017). It is known that AMPs are stimulated by VD, and protect the skin from *S. aureus* infection. Nevertheless, there was no association between lower VD levels and increased presence of *S. aureus* in skin lesions.

Age range and seasonality were associated with lower VD levels, independent of the group, in all analyses. When we evaluated per age group, adolescents presented lower rates of 25(OH)D compared with children younger than 12 years. It is possible that this difference is due to the behavior of adolescents, who prefer activities indoors, while children still prefer to be outdoors. The findings were similar to those of Godar *et al.*; who demonstrated different behavioral patterns of sun exposure according to the age, which justifies lower VD rates in adolescents(Godar, 2001). However, there are no similar studies in Brazil that evaluate the time and the amount of sun exposure in the different age groups.

In both groups, seasonality was the major influence of VD. In winter, there is less penetration of UVB radiation into the Earth's atmosphere, and people cover larger body surface with clothing. Furthermore, most people remain less exposed to solar radiation because they choose indoor activities(Premaor e Furlanetto, 2006; Godar *et al.*, 2012). All these factors lead to lower levels of VD in winter, and higher in summer. A cohort study of 7437 British adults showed the VD peak at the end of the summer with a mean of 30 ng/ml, and a lower level at the end of the winter, 14 ng/ml, demonstrating the great influence of seasonality(Hyppönen e Power, 2007).

In the present study, VD variation during the different seasons was well defined, with lower values during the winter and spring, and higher during the summer and fall ( $p < 0.001$ ). Due to this strong seasonal influence, and the fact that the inclusion of the cases and controls was not equal during the seasons, it became necessary to adjust the statistical data by applying

a linear model to control these confounders. This adjusted analysis allowed the VD difference between the groups to be demonstrated, 25.51 ng/ml in the atopics and 27.87 ng/ml in the controls, ( $p=0.049$ ).

Studies show that patients with AD clinically worsens during the winter and spring(Kim *et al.*, 2017). External stressors common in these stations, such as the decrease in temperature, the low relative air humidity, and less exposure to solar radiation are possible factors for deterioration of the skin barrier, worsening the symptoms. It is questioned whether this aggravation of the disease during winter would be associated with a decrease in VD levels typical of the season.

Camargo *et al* evaluated the patients with winter-related AD and supplemented them with VD, resulting in significant clinical improvement(Camargo *et al.*, 2014). Further interventional studies are needed to explore the potential therapeutic benefit of supplementation in atopics during the winter.

The complexity of the relationship between AD and VD is yet to be elucidated. The theoretical underpinning of 25 (OH)D influence on the skin barrier and the protection against infections is well established. However, in clinical studies this association is not always demonstrated, probably because of the difficulty of controlling confounding factors that influence VD levels.

The present study found statistically lower VD levels in patients with AD compared to controls. It should be noted that 25 (OH)D levels were deficient or insufficient in a large part of our sample, and showed great variation throughout the climatic seasons. The association of lower levels of VD with greater severity of the disease demonstrated in other studies, was not observed. Although we had a high number of atopics with positive colonization for *S. aureus*, this was not associated with lower VD levels.

### References:

ADDOR, F. A.; AOKI, V. Skin barrier in atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 2, p. 184-94, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1806-4841. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20520934>>.

CAMARGO, C. A. et al. Randomized trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in children. **J Allergy Clin Immunol**, v. 134, n. 4, p. 831-835.e1, Oct 2014. ISSN 1097-6825. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25282565> >.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch Dermatol**, v. 124, n. 6, p. 869-71, Jun 1988. ISSN 0003-987X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3377516> >.

GILABERTE, Y. et al. Correlation Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and Virulence Genes of Staphylococcus aureus Isolates Colonizing Children with Atopic Dermatitis. **Pediatr Dermatol**, Dec 2014. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25491017> >.

GODAR, D. E. UV doses of American children and adolescents. **Photochem Photobiol**, v. 74, n. 6, p. 787-93, Dec 2001. ISSN 0031-8655. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11783934> >.

GODAR, D. E. et al. Solar UV doses of young Americans and vitamin D3 production. **Environ Health Perspect**, v. 120, n. 1, p. 139-43, Jan 2012. ISSN 1552-9924. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21852226> >.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul 2011. ISSN 1945-7197. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21646368> >.

HYPPÖNEN, E.; POWER, C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 3, p. 860-8, Mar 2007. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17344510> >.

KIM, M. et al. Seasonal variation and monthly patterns of skin symptoms in Korean children with atopic eczema/dermatitis syndrome. **Allergy Asthma Proc**, v. 38, n. 4, p. 294-299, Jul 2017. ISSN 1539-6304. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28668109> >.

KIM, M. J. et al. Vitamin D Status and Efficacy of Vitamin D Supplementation in Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 8, n. 12, Dec 2016. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27918470> >.

MESQUITA, K. E. C.; IGREJA, A. C.; COSTA, I. M. Atopic dermatitis and vitamin D: facts and controversies. **An Bras Dermatol**, v. 88, n. 6, p. 945-53, 2013 Nov-Dec 2013. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474104> >.

MUTGI, K.; KOO, J. Update on the role of systemic vitamin D in atopic dermatitis. **Pediatr Dermatol**, v. 30, n. 3, p. 303-7, 2013 May-Jun 2013. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22957498> >.

PERONI, D. G. et al. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and severity of atopic dermatitis in children. **Br J Dermatol**, v. 164, n. 5, p. 1078-82, May 2011. ISSN 1365-2133. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087229> >.

PETRY, V. et al. Bacterial skin colonization and infections in patients with atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, v. 87, n. 5, p. 729-34, 2012 Sep-Oct 2012. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23044566> >.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. [Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 1, p. 25-37, Feb 2006. ISSN 0004-2730. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16628272> >.

ROBL, R. et al. Serum Vitamin D Levels Not Associated with Atopic Dermatitis Severity. **Pediatr Dermatol**, v. 33, n. 3, p. 283-8, May 2016. ISSN 1525-1470. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26862046> >.

ROIDER, E.; RUZICKA, T.; SCHAUBER, J. Vitamin d, the cutaneous barrier, antimicrobial peptides and allergies: is there a link? **Allergy Asthma Immunol Res**, v. 5, n. 3, p. 119-28,

May 2013. ISSN 2092-7355. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638309>>.

Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. **Dermatology**, v. 186, n. 1, p. 23-31, 1993. ISSN 1018-8665. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8435513>>