



ARTIGO DE REVISÃO

Erros inatos da imunidade: Como diagnosticar?☆

Anete Sevciovic Grumach ^a, Ekaterini Simões Goudouris ^{b,*}

^a Centro Universitário Saúde ABC (CEUFMABC), Faculdade de Medicina, Serviço de Referência em Doenças Raras, Imunologia Clínica, Santo André, SP, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Recebido em 19 de novembro de 2020; aceito em 19 de novembro de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Avaliação
imunológica;
Imunodeficiências;
Erros inatos da
imunidade;
Diagnóstico;
Investigação;
Exames laboratoriais

Resumo

Objetivos: Os erros inatos da imunidade são caracterizados por quadros infecciosos e manifestações de desregulação imunológica. A diversidade de fenótipos clínicos pode dificultar o direcionamento da investigação laboratorial. Este artigo tem por objetivo realizar uma atualização sobre a investigação da competência imunológica no contexto dos defeitos primários do sistema imunológico.

Fonte dos dados: Realizadas buscas no Pubmed por artigos de revisão dos últimos cinco anos, em inglês, francês ou espanhol, utilizando os termos “diagnosis” OR “investigation” AND “immunodeficiency” or “primary immunodeficiency” or “inborn errors of immunity” NOT “HIV”. Edições recentes de livros textos também foram consultadas.

Síntese dos dados: A investigação da competência do sistema imunológico deve ser iniciada a partir de fenótipos clínicos. São dados relevantes: caracterização dos quadros infecciosos (local, recorrência, tipos de agentes infecciosos, resposta ao tratamento), idade de início dos sintomas e manifestações associadas (interferência no crescimento, alergia, autoimunidade, doenças malignas, febre e sinais de inflamação sem identificação de infecção ou autoimunidade) e história familiar. Esses dados contribuem para a seleção de exames a serem realizados.

Conclusões: A investigação diagnóstica dos erros inatos da imunidade deve ser guiada pela caracterização clínica dos pacientes, procurando-se otimizar o uso de exames complementares. Muitos diagnósticos são possíveis apenas por meio de exames genéticos, nem sempre disponíveis. No entanto, a ausência de diagnóstico de certeza jamais deve postergar a instituição de medidas terapêuticas que preservem a vida e a saúde dos pacientes.

© 2020 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

DOI se refere ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2020.11.007>

☆Como citar este artigo: Grumach AS, Goudouris ES. Innate immunity errors: How to diagnose? J Pediatr (Rio J). 2021;97(S1):84-90.

* Autor para correspondência.

E-mail: egoudouris@gmail.com (E.S. Goudouris).

Introdução

Os defeitos primários do sistema imune são chamados tradicionalmente de imunodeficiências primárias (IDP). No entanto, em decorrência do grande número de defeitos mais recentemente descritos, nos quais há manifestações mais relacionadas à desregulação do sistema imunológico do que propriamente à sua deficiência, essa nomenclatura vem sendo substituída por erros inatos de imunidade (EII).^{1,2}

A classificação atual é composta por 416 doenças causadas por mutações em mais de 450 genes.² As manifestações de natureza infecciosa são as mais comuns. Nos últimos anos, os defeitos primários do sistema imune têm-se relacionado não somente às infecções frequentes ou graves, mas também à suscetibilidade específica a certos agentes infecciosos. Além disso, houve um melhor reconhecimento de outras características clínicas, como alergias graves, processos inflamatórios, linfoproliferação, autoimunidade e, inclusive, malignidades.³

Em decorrência da diversidade de manifestações clínicas, é importante que a condução da investigação laboratorial dos EII seja direcionada a partir do fenótipo clínico e de uma triagem imunológica inicial.⁴ Diversos estudos mostram a relevância da história familiar como um sinal de alerta. Os exames complementares devem seguir uma sequência de complexidade crescente, partindo de um simples hemograma e dosagem de imunoglobulinas, chegando ao sequenciamento completo do exoma ou do genoma, por técnica de sequenciamento de nova geração.^{5,6}

Lamentavelmente, muitos dos exames necessários para o esclarecimento diagnóstico de doenças deste grupo não se encontram disponíveis em laboratórios comerciais, e alguns nem mesmo em laboratórios de pesquisa no Brasil. Para alguns exames disponíveis em laboratórios comerciais, temos ainda o problema da não inclusão no rol do Sistema Único de Saúde (SUS) nem da Saúde Suplementar.

Objetivos

Nosso objetivo foi desenvolver uma proposta de abordagem atualizada para a investigação laboratorial da competência imunológica no contexto dos EII.

Fonte dos dados

Realizamos buscas no Pubmed por artigos de revisão dos últimos cinco anos, em inglês, francês ou espanhol, utilizando os termos “diagnosis” OR “investigation” AND “immunodeficiency” or “primary immunodeficiency” or “inborn errors of immunity” NOT “HIV”. Edições recentes de livros textos também foram consultadas.

Resultados

Avaliação inicial

É importante ressaltar que a abordagem descrita a seguir focará nos exames imunológicos, embora outros exames laboratoriais e de imagem sejam relevantes para a investigação de manifestações não infecciosas dessas doenças.

A caracterização dos quadros infecciosos (local, recorrência, tipos de agentes infecciosos, resposta ao tratamento, reações adversas a vacinas), idade de início dos sintomas e manifestações associadas (interferência no crescimento, alergia, autoimunidade, linfoproliferação, doenças malignas, febre e sinais de inflamação sem identificação de infecção ou autoimunidade) tornam possível direcionar o setor da resposta imune mais provavelmente acometido e que deve ser prioritariamente avaliado.⁷ Na [tabela 1](#), apresentamos os exames complementares iniciais de acordo com o tipo de infecção, agentes infecciosos identificados e manifestações não infecciosas associadas.

É importante ter em mente que um passo inicial indispensável é descartar a presença de alguma imunodeficiência secundária, particularmente a infecção pelo HIV, e também pelo uso de medicamentos, perdas renais ou gastrintestinais.⁷

Um simples hemograma com hematoscopia fornece muitos dados que podem ser relevantes para direcionar a investigação diagnóstica: presença de anemia, plaquetopenia, com ou sem plaquetas de pequeno tamanho, leucocitose acima de 20.000, linfopenia, neutropenia, monocitopenia, eosinofilia e/ou grânulos gigantes em neutrófilos.⁷ A linfopenia, definida por linfócitos abaixo de 2.500 nos primeiros meses de vida, pode indicar comprometimento da imunidade celular.⁵

A dosagem de subclasses de IgG é um exame de relevância discutível; pode ser importante diante de um paciente com deficiência de IgA que apresente infecções bacterianas recorrentes importantes, mas sempre deve ser associada à avaliação da resposta funcional de anticorpos.^{5,7}

A dosagem de iso-hemaglutininas em crianças acima de 1 ano e que não sejam do grupo sanguíneo AB pode auxiliar na avaliação da capacidade de produção de anticorpos, pois são anticorpos naturais IgM contra antígenos polissacarídeos do grupo sanguíneo.⁷ Para a pesquisa de resposta a antígenos proteicos, avaliamos resposta vacinal e habitualmente solicitamos sorologias para sarampo, rubéola, caxumba, tétano, poliovírus e difteria. Em pacientes que já estejam recebendo reposição de imunoglobulina, a opção, em nosso meio, seria avaliar resposta à vacina para a raiva.⁵

A resposta a antígenos polissacarídeos deve ser obtida solicitando-se dosagens de IgG para 23 sorotipos de pneumococos antes e quatro a seis semanas após a aplicação da vacina pneumocócica não conjugada (23 valente). Considera-se uma resposta normal a polissacarídeos a presença na dosagem pós-vacinal de títulos acima de 1,33 ou aumento de duas vezes em relação aos títulos pré-vacinais, para mais de 50% dos 11 sorotipos em menores de 6 anos e 70% em maiores de 6 anos (2, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 15B, 17F, 20, 22F e 33F) ausentes de qualquer uma das vacinas conjugadas aplicadas no primeiro ano de vida.⁷⁻⁹ A avaliação de apenas sete sorotipos presentes em qualquer uma das vacinas conjugadas não é apropriada para esse diagnóstico.

A dosagem de imunoglobulinas séricas constitui uma triagem não somente da imunidade mediada por anticorpos, mas também de alguns defeitos combinados de células B (CD19⁺ ou CD20⁺) e T (CD3⁺), principalmente se as associarmos à avaliação da resposta vacinal. Imunodeficiências associadas a quadros sindrômicos também podem ser triadas por essa avaliação, tais como na síndrome de hiper-IgE, ataxia telangiectasia ou displasia ectodérmica.⁵

Tabela 1 Avaliação imunológica de acordo com o tipo de infecção, de agente infeccioso e manifestações associadas

| Infecções | Outras manifestações | Ell suspeitos | Exames iniciais |
|---|--|---|---|
| Graves, disseminadas, por vírus, bactérias, fungos, protozoários, germes oportunistas Citomegalovírus Herpesvírus Micobactérias Candida sp. Aspergillus sp. Toxoplasmose P. jirovecii Cryptosporidium sp. Reação à vacina BCG | Início precoce Comprometimento do crescimento Diarreia crônica Ausência de timo Microcefalia, com ou sem dismorfismos faciais Malformações e dismorfismos faciais Displasia óssea Fraturas Escoliose Baixa estatura Microcefalia Hematomas/sangramentos Ataxia cerebelar Telangiectasias óculo-cutâneas Atraso global do desenvolvimento Déficit intelectual Hipermotilidade articular Eczema extenso Ictiose Displasia ectodérmica | Imunodeficiências combinadas de células T e B - SCID Imunodeficiências combinadas associadas a síndromes | Hemograma contagem de linfócitos (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) TREC dosagem de imunoglobulinas |
| Bacterianas, germes encapsulados do trato respiratório, articular, sepse, graves e/ou recorrentes Pneumococo Hemofilus Mycoplasma Giardia lamblia Bactérias intestinais: Campylobacter sp., Salmonella sp. Enterovírus (pólio vacinal) Norovírus | Início dos sintomas acima dos 6 meses Ausência de amígdalas/adenoides Linfoproliferação Hiperplasia nodular linfoide Atraso do desenvolvimento Cromossomopatias | Defeitos predominantemente de anticorpos | Hemograma Dosagem de imunoglobulinas Contagem de linfócitos B KREC |
| Bacterianas, germes encapsulados do trato respiratório, articular ou meninges, sepse Pneumococo Neisseria sp. Hemofilos | Manifestações de autoimunidade, lúpus-símile, glomerulopatia | Defeitos do complemento | C3, C4, CH50 |
| Não significativas, não graves Candidíase Infecções bacterianas Vírus de Epstein-Barr | Início precoce Linfoproliferação Linfo-histiocitose hemofagocítica Albinismo óculo-cutâneo parcial Atraso do desenvolvimento Citopenias autoimunes Endocrinopatias autoimunes Doença inflamatória intestinal grave | Doenças com imunodesregulação | Hemograma Hematoscopia Autoanticorpos |

Tabela 1 (Continuação)

| Infecções | Outras manifestações | EII suspeitos | Exames iniciais |
|---|---|--|--|
| <p>Infecções cutâneas recorrentes</p> <p>Abscessos profundos</p> <p>Pneumonias necrotizantes</p> <p>Osteomielite</p> <p>Germes catalase positivos: <i>Stafilococcus</i> sp., <i>Klebsiela</i> sp., <i>Serratia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Burkholderia cepacia</i>, <i>M. tuberculosis</i></p> | <p>Início precoce</p> <p>Granulomas</p> <p>Doença inflamatória intestinal inespecífica</p> <p>Insuficiência pancreática</p> <p>Atraso do desenvolvimento</p> <p>Déficit intelectual</p> <p>Aftas</p> <p>Atraso queda coto umbilical</p> <p>Má cicatrização</p> <p>Doença periodontal</p> <p>Proteinose alveolar pulmonar</p> <p>Linfedema</p> <p>mielodisplasia</p> | <p>Doenças de fagócitos numéricas ou funcionais</p> | <p>Hemograma</p> <p>Avaliação morfológica de neutrófilos na hematoscopia</p> <p>Avaliação de burst oxidativo (DHR)</p> |
| <p>Infecções recorrentes por apenas um tipo ou poucos tipos de microrganismo</p> <p>Bacterianas, invasivas, sepse, meningite, artrite, osteomielite</p> <p>Pneumococos</p> | <p>Pouca ou nenhuma febre</p> <p>Atraso da queda do coto umbilical</p> <p>Melhora com a idade</p> <p>Ausência de baço</p> | <p>Deficiência de imunidade inata - defeito de IRAK4/MyD88</p> | <p>Hemograma, dosagem de imunoglobulinas, fenotipagem de linfócitos, CH50 para descartar outros diagnósticos, Shedding de 62L</p> |
| <p>Infecções recorrentes por apenas um tipo ou poucos tipos de microrganismo</p> <p>Micobactérias</p> <p>Fungos e bactérias intracelulares</p> | <p>Reação à vacina BCG</p> | <p>Suscetibilidade mendeliana a micobactérias</p> | <p>Avaliação funcional do eixo IFN g-IL12</p> |
| <p>Infecções recorrentes por apenas um tipo ou poucos tipos de microrganismo</p> <p>Verrugas disseminadas por HPV com ou sem infecções bacterianas</p> <p>Encefalite recorrente por herpes simples</p> <p>Reações graves às vacinas tríplice viral, da febre amarela</p> | <p>Sem outras manifestações</p> | <p>Deficiência da imunidade inata com suscetibilidade a infecções virais</p> | <p>Dosagem de imunoglobulinas</p> <p>Hemograma</p> <p>Fenotipagem de linfócitos para descartar outros diagnósticos</p> <p>Shedding de 62L</p> |
| <p>Infecções recorrentes por apenas um tipo ou poucos tipos de microrganismos</p> <p>Infecções cutâneas e/ou invasivas por fungos, principalmente <i>Candida</i> sp., com ou sem infecções cutâneas por estafilococos</p> | <p>Displasia ectodérmica</p> <p>Endocrinopatias autoimunes</p> | <p>Deficiências da imunidade inata com suscetibilidade para fungos</p> | <p>Hemograma, dosagem de imunoglobulinas, fenotipagem de linfócitos, DHR para descartar outros diagnósticos</p> |
| <p>Não significativas, não graves, nem recorrentes</p> | <p>Manifestações inflamatórias na ausência de agentes infecciosos ou autoimunidade</p> <p>Febre recorrente</p> <p>Erupção urticariforme sem prurido</p> <p>Paniculite</p> <p>Lipodistrofia</p> <p>Lesões líticas ósseas</p> | <p>Doenças autoinflamatórias</p> | <p>Provas de atividade inflamatória</p> <p>Autoanticorpos, dosagem de imunoglobulinas e fenotipagem de linfócitos para descartar outros diagnósticos</p> |

Tabela 1 (Continuação)

| Infecções | Outras manifestações | EII suspeitos | Exames iniciais |
|-----------|--|---------------|-----------------|
| | Artrite Pioderma gangrenoso Acne grave Psoríase pustular Encefalopatia Acidentes vasculares cerebrais Pernio | | |

Fontes: Rosenzweig et al.⁵; Tangye et al.²; Bousfiha et al.⁴; Chinen et al.⁷.

Exames muito usados para a avaliação imunológica inicial, as dosagens de imunoglobulinas A, M, G e E e as contagens de subpopulações de linfócitos (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, respectivamente T, T4, T8, B e NK) devem ser comparadas com valores de referência para a idade e, de preferência, na população da qual se origina o paciente.⁵

Abordando mais especificamente a imunidade mediada por linfócitos T, os testes intradérmicos de hipersensibilidade tardia podem ser utilizados para a triagem da imunidade celular. Os antígenos utilizados são: candidina, estreptoquinase/dornase, toxina estafilocócica, tricofitina e PPD. Pacientes com menos de 1 ano de idade devem responder (pápula de 3 mm) a pelo menos um dos antígenos testados, em 48 a 72 horas. Essa forma de avaliação tem sido abandonada, pois o acesso à citometria de fluxo tornou-se mais fácil quando foi implementado o monitoramento de pacientes HIV positivos. A avaliação funcional da imunidade mediada por linfócitos T pode ser realizada *in vitro*. A estimulação pode ser feita com mitógenos e antígenos, tradicionalmente pela incorporação de timidina tritiada ou, mais recentemente, por meio da incorporação de um nucleotídeo (EdU) via sistema de fluorescência ou por corante (CSFE).^{5,7} Trata-se de exame com disponibilidade restrita. Quando indisponível, os testes intradérmicos *in vivo* podem ser úteis.

A avaliação de TREC (*T-cell receptor excision circles*) e KREC (*kappa-deleting recombination excision circles*), contagem por PCR de círculos de excisão que são descartados durante o processo de rearranjo de receptores de superfície, respectivamente de células T e B, constituem interessante exame de triagem realizado a partir de gotas de sangue em papel filtro (*dried blood spot* - DBS).¹⁰ Com o TREC é possível avaliar a presença de células T *naïve* recém-saídas do timo, e com o KREC, a presença de linfócitos B imaturos. Habitualmente utilizados para triagem neonatal de defeitos de células T e B, essa contagem também pode ser útil na investigação em caso de suspeita de um EII.¹¹ Quando há suspeita de imunodeficiência combinada grave, a marcação adicional das células NK (CD16⁺CD56⁺) possibilita supor os defeitos moleculares associados.⁴

Considerando-se os defeitos de neutrófilos, a neutropenia congênita pode ser avaliada, como descrito, por um leucograma. Entretanto, a neutropenia cíclica exige a realização de leucogramas seriados semanais (duas a três vezes por semana por seis semanas) para a detecção dos períodos de neutropenia acentuada.^{12,13} A avaliação funcional deve ser solicitada de acordo com a história clínica, e os testes de *nitrobluetetrazolium* (NBT) ou di-hidrorodamina (DHR) podem ser aplicados para os defeitos de morte intracelular, tal como a doença granulomatosa crônica. Outra etapa da ativação de fagócitos, a

quimiotaxia de neutrófilos pode ser avaliada com o uso da câmara de Boyden e leitura em microscópio comum ou em meio ágar; no entanto, trata-se de técnica de realização trabalhosa e de difícil padronização, realizada em centros de pesquisa.^{5,14}

A ativação das vias clássica e alternativa do complemento pode ser avaliada pelo CH50 ou CH100 e pelo AP50. Esses exames direcionam os componentes possivelmente deficientes nessas vias. Embora as dosagens dos componentes C3 e C4 sejam facilmente disponíveis, as deficiências primárias completas dessas proteínas são raras. Para o diagnóstico das deficiências da via das lectinas, por exemplo, lectina ligadora de manose (MBL) ou serinoprotease associada a MBL (MASP2), é preciso fazer ensaios específicos para este fim. É importante salientar que, ao avaliar o sistema do complemento, valores alterados devem ser checados - em se tratando de proteínas de fase aguda e extremamente termolábeis, o consumo diante de um quadro agudo ou problemas de coleta/manejo da amostra são comuns.^{7,15}

Avaliação por citometria de fluxo

A citometria de fluxo revolucionou a imunologia e o estudo dos EII.¹⁶ Como mencionado anteriormente, o uso desse aparelho foi impulsionado pela epidemia de AIDS e, com ele, é possível detectar a expressão de proteínas de superfície, intracelulares ou intranucleares, o que possibilita a identificação de populações e subpopulações de células, a detecção de efeitos biológicos da ativação celular ou decorrentes de defeitos imunológicos e a avaliação de função do sistema imune.¹⁷ Portanto, além da quantificação de células, muitos ensaios funcionais podem ser realizados, fornecendo resultados rápidos.^{16,17}

A avaliação mais comumente solicitada é a fenotipagem basal de linfócitos: B (CD19 ou CD20), NK (CD56/16), T (CD3), T4 (CD3CD4), T8 (CD3CD8). Entretanto, diversas situações a seguir podem demonstrar a abrangência desse método. Em casos de hipogamaglobulinemia com número normal de linfócitos B (CD19⁺), é importante a avaliação de subpopulações de linfócitos B: *naïve* (CD27⁻) de memória (CD27⁺), com *switch* de classes (IgM⁻) ou sem *switch* de classes (IgM⁺).^{5,17}

Nos defeitos combinados T e B sem linfopenia intensa, faz-se necessária a avaliação de mais subpopulações de linfócitos T: *naïve* (CD3⁺ CD45RA⁺), de memória (CD3⁺ CD45RO⁺), duplo negativos (CD3⁺ TCRαβ⁻ CD4⁻CD8⁻) e Th17.^{5,17}

A marcação de subpopulações de células NK (CD56 e CD16) possibilita identificar cinco populações: CD56^{bright} CD16⁻, CD56^{bright} CD16^{dim}, CD56^{dim} CD16⁻, CD56^{dim} CD16⁺, CD56⁻CD16⁺.

Células NK CD56^{bright} são as que mais produzem IFN γ ; as CD56^{dim} são as que apresentam maior quantidade de perforina e granzimas, enquanto as CD16⁺ são as que atuam na citotoxicidade mediada por anticorpos.^{5,17} As células T NK apresentam CD3 e CD56, atuam na imunidade inata e estão alteradas em síndromes linfoproliferativas associadas ao vírus de Epstein-Barr.

Na realidade, as subpopulações celulares identificadas pela citometria de fluxo são muito mais numerosas que as aqui apresentadas e têm permitido não apenas conhecer melhor os EIL, como também o funcionamento do sistema imune.^{16,18}

É possível marcar, também pela citometria de fluxo, a expressão de proteínas como BTK, WASp, CD40/CD40L, CD11/CD18, IL-10R, auxiliando no diagnóstico, respectivamente, da agamagobulinemia ligada ao X, síndrome de Wiskott-Aldrich, hiper-IgM, defeito de adesão leucocitária tipo I e doença inflamatória intestinal precoce e grave por defeito de IL-10R. Um grande número de outras moléculas pode ser marcado.^{17,18}

Além disso, ensaios funcionais *in vitro* podem ser realizados por citometria de fluxo para avaliar a proliferação e ativação de linfócitos, citotoxicidade de TCD8 e NK, a atividade do eixo IFN- γ -IL-12, *burst* oxidativo de fagócitos DHR e ativação específica de TLR e muitos outros.^{17,18}

Avaliação avançada

Os exames abordados para avaliação inicial possibilitam a identificação de um considerável percentual de pacientes com EIL. Entretanto, não tornam possível o diagnóstico de muitos outros defeitos, mais recentemente descritos. A realização de exames mais especializados e que, em geral, não estão incorporados em rotinas laboratoriais, pode ser necessária.

A avaliação do repertório de receptores de células T (TCR) avaliando cadeia β da região variável (V β) pode ser feita por citometria de fluxo ou por PCR, identificando sua curva de distribuição, oligo (patológica) ou policlonal (normal).⁵ Assim, identificamos doenças nas quais o número de linfócitos é normal, mas a resposta celular é prejudicada por conta de restrição de sua especificidade, de sua capacidade de reconhecimento de diferentes antígenos.

A dosagem em sangue periférico da atividade enzimática de adenosina deaminase (ADA) e purino nucleosídeo fosforilase (PNP) pode auxiliar no diagnóstico de casos de imunodeficiência combinada grave (SCID). Esses defeitos, por sua vez, podem ser tratados com reposição enzimática até que seja possível realizar o tratamento definitivo com transplante de células-tronco hematopoiéticas. Um exame de fácil realização é a dosagem de ácido úrico, que se encontra extremamente baixa na deficiência de PNP, que atua na metabolização da purina. A dosagem de alfa fetoproteína encontra-se elevada em pacientes com ataxia-telangiectasia - portanto, um bom exame a ser utilizado diante dessa suspeita.⁷

Ensaio de citotoxicidade são úteis diante de suspeitas de defeitos em células NK, com infecções virais importantes, particularmente por papilomavírus humano (HPV) ou da família herpes. Podem ser realizados por meio da avaliação da liberação de Cromo⁵¹ no sobrenadante a partir da célula-alvo lisada ou a expressão de CD107a na superfície da célula. Na realidade, o primeiro método avalia a citotoxicidade em si e o

segundo, a capacidade de degranulação. Em defeitos de perforina, por exemplo, há expressão normal de CD107a na superfície de NK, mas pouca eliminação de Cromo⁵¹ no sobrenadante.⁵

Ensaio funcionais para avaliação de defeitos do eixo IFN γ -IL-12, que causam suscetibilidade mendeliana a micobactérias, são realizados avaliando-se, *in vitro*, a produção de IL-12 após estímulo de células mononucleares periféricas com IFN γ , assim como a produção de IFN γ após estímulo de linfócitos com IL-12.⁵

Avaliação funcional de *toll-like receptors* (TLR), relevante apenas no caso de suscetibilidade restrita a um tipo de agente infeccioso - sugerindo uma deficiência da imunidade inata - é feita por meio do ensaio denominado *shedding* de CD62L. Mediante diversos estímulos específicos para diferentes TLR, avalia-se a quantidade de CD62L liberada por neutrófilos no sobrenadante. O aumento de CD62L identifica vias de sinalização íntegras.⁵ A dosagem sérica de IFN γ é útil na investigação de um grupo de doenças autoinflamatórias denominado interferonopatias.^{7,19}

Exames genéticos

Análise cromossômica por *microarray* é uma técnica bastante utilizada em genética, particularmente quando se está diante de um fenótipo sindrômico ou pouco específico para que se identifique um ou alguns genes suspeitos.²⁰ Esse exame identifica perdas e ganhos cromossômicos, número de cópias de variantes (CNV - *copy number variants*) em todo o genoma, deleções e duplicações com maior sensibilidade que o cariótipo. Tem a capacidade também para detectar um excesso de homozigose, sugerindo consanguinidade, por vezes restrita a uma determinada parte do código genético, o que auxilia no direcionamento à busca de mutações por sequenciamento de nova geração. O método é bastante utilizado para identificar deleção de 22q11, relacionado à síndrome de DiGeorge (aplasia ou hipoplasia tímica, cardiopatia congênita, hipoparatiroidismo associados).²¹

O sequenciamento genético pelo método de Sanger ainda é considerado o padrão ouro no diagnóstico de mutações.^{20,21} No entanto, o sequenciamento de nova geração (NGS - *new generation sequencing*), adotado a partir de 2010, torna possível investigar muitos mais genes simultaneamente e com custo bem menor. O NGS é feito por meio de painéis de genes, escolhidos de acordo com o tipo de doença a investigar, pela avaliação completa do exoma (WES - *whole exome sequencing*), em que se sequencia apenas a parte do genoma que codifica proteínas (exons), ou ainda pela avaliação completa do genoma (WGS - *whole genome sequencing*). O WGS tem maior capacidade diagnóstica; no entanto, por conta do elevado custo e da dificuldade em manejar um grande número de informações, ainda não é utilizado na prática clínica. O sequenciamento por meio de painéis de genes é mais econômico; no entanto, pode não tornar possível o diagnóstico em muitos casos. O WES é uma opção intermediária em termos de custo e quantidade de dados a serem analisados e tem sido considerado o exame com melhor relação custo-benefício.²² Independentemente do tipo de sequenciamento a ser realizado, é fundamental que seja feita boa caracterização clínica e imunológica do paciente, além de completo histórico familiar,

de modo a definir os principais genes suspeitos e possíveis formas de herança.²³

O sequenciamento genético trouxe a possibilidade de comprovar muitos diagnósticos, descrever novos defeitos, propiciando, inclusive, melhor conhecimento acerca do funcionamento do sistema imune. Os exames genéticos fornecem o diagnóstico definitivo da maioria dos EII. Entretanto, trouxe também muitos desafios, de custo, de acesso e de interpretação, com a necessidade de aprimorar a análise dos dados obtidos e de comprovar a patogenicidade de algumas mutações de significado incerto até o presente momento.^{21,22} Nesse último caso, ensaios funcionais, muitas vezes realizados por meio da citometria, são necessários para a comprovação de sua patogenicidade.¹⁸

Conclusões

Uma listagem padrão de exames imunológicos deve ser evitada. É preciso otimizar a solicitação de exames tendo por base a caracterização clínica dos pacientes.

Há uma série de exames avançados de difícil acesso ou indisponíveis em nosso meio. Muitos diagnósticos no grupo dos EII são possíveis apenas com exames genéticos, nem sempre disponíveis. Apesar das vantagens de um diagnóstico preciso para o manejo dos pacientes, sua ausência jamais deve postergar a instituição de medidas terapêuticas que mantenham a vida e a saúde dos pacientes.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2018;38:96-128.
- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020;40:24-64.
- Chan AY, Torgerson TR. Primary immune regulatory disorders: a growing universe of immune dysregulation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20:582-90.
- Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Al-Herz W, Ailal F, Chatila T, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol*. 2020;40:66-81.
- Rosenzweig SD, Kobrynski L, Fleisher TA. Laboratory evaluation of primary immunodeficiency disorders. In: Sullivan KE, Stiehm ER (eds.). *Stiehm's Immune Deficiencies: inborn errors of immunity*. 2.ed. London: Elsevier Inc.; 2020.
- Cordero E, Goycochea-Valdivia W, Mendez-Echevarria A, Allende LM, Alsina L, Garcia-Morato MB, et al. Executive summary of the Consensus Document on the diagnosis and management of patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8:3342-7.
- Chinen J, Paul ME, Shearer WT. Approach to the Evaluation of the Patient With Suspected Immunodeficiency. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM (eds.). *Clinical Immunology - Principles and Practice*. 5.ed. Elsevier; 2019. p.451-61.e1.
- Perez E, Bonilla FA, Orange JS, Ballou M. Specific antibody deficiency: controversies in diagnosis and management. *Front Immunol*. 2017;8:586.
- Sorensen RU, Leiva LE. Measurement of pneumococcal polysaccharide antibodies. *J Clin Immunol*. 2014;34:127-8.
- Puck JM. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia. *Immunol Rev*. 2019;287:241-52.
- Borte S, von Döbeln U, Hammarstrom L. Guidelines for newborn screening of primary immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol*. 2013;20:48-54.
- Dale DC, Welte K. Cyclic and chronic neutropenia. *Cancer Treat Res*. 2011;157:97-108.
- Zergham A, Acharya U. *Cyclic Neutropenia*. FL: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
- Agudelo-Florez P, Prando-Andrade CC, Lopez JA, Costa-Carvalho BT, Quezada A, Espinosa FJ, et al. Chronic granulomatous disease in Latin American patients: clinical spectrum and molecular genetics. *Pediatr Blood Cancer*. 2006;46:243-52.
- Brodzki N, Frazer-Abel A, Grumach AS, Kirschfink M, Litzman J, Perez E, et al. European Society for Immunodeficiencies (ESID) and European Reference Network on Rare Primary Immunodeficiency, Autoinflammatory and Autoimmune Diseases (ERN RITA) Complement Guideline: Deficiencies, Diagnosis, and Management. *J Clin Immunol*. 2020;40:576-91.
- Ma CS, Tangye SG. Flow cytometric-based analysis of defects in lymphocyte differentiation and function due to inborn errors of immunity. *Front Immunol*. 2019;10:2108.
- Kanegane H, Hoshino A, Okano T, Yasumi T, Wada T, Takada H, et al. Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int*. 2018;67:43-54.
- Knight V. The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Int J Lab Hematol*. 2019;41:S63-72.
- Ramirez-Alejo N, Santos-Argumedo L. Innate defects of the IL-12/IFN-gamma axis in susceptibility to infections by mycobacteria and salmonella. *J Interferon Cytokine Res*. 2014;34:307-17.
- Chinn IK, Chan AY, Chen K, Chou J, Dorsey MJ, Hajjar J, et al. Diagnostic interpretation of genetic studies in patients with primary immunodeficiency diseases: A working group report of the Primary Immunodeficiency Diseases Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145:46-69.
- Heimall JR, Hagin D, Hajjar J, Henrickson SE, Hernandez-Trujillo HS, Tan Y, et al. Use of genetic testing for primary immunodeficiency patients. *J Clin Immunol*. 2018;38:320-9.
- Meyts I, Bosch B, Bolze A, Boisson B, Itan Y, Belkadi A, et al. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138:957-69.
- Torgerson T. Genetics of primary immunodeficiencies. In: Sullivan KE, Stiehm ER (eds.). *Stiehm's Immune Deficiencies: inborn errors of immunity*. 2.ed. London: Elsevier Inc.; 2020.