

Suscetibilidade mendeliana a infecções por micobactérias (MSMD) e análise dos níveis de IL12 / IFN γ de um centro de referência

Amanda Matos Machado¹, Lara Novaes Teixeira¹, Camila Brito de Carvalho¹, Larissa Said e Said¹,
Amanda Oliveira de Araújo Lima¹, Amanda Silva de Oliveira Sobrinho¹,
Bruna Ribeiro de Oliveira Casaretti¹, Antônio Condino-Neto¹, Carolina Sanchez Aranda¹, Dirceu Solé¹

Justificativa: A MSMD é uma condição hereditária rara definida pela suscetibilidade seletiva a micobactérias fracamente virulentas, incluindo subcepas da vacina Bacille Calmette-Guérin (BCG), várias micobactérias ambientais e outros germes intracelulares (GI), em pacientes saudáveis sem anormalidades imunológicas evidentes. O objetivo desse estudo foi avaliar pacientes submetidos a avaliação funcional do eixo IL12/IFN γ (EIIF) por infecções por GI, encaminhados ao nosso centro de referência. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, retrospectivo, unicêntrico, baseado em análise de prontuários dos pacientes, durante o período de janeiro de 2016 a agosto de 2022. **Resultados:** No período descrito, 50 pacientes (31 - 62% do sexo feminino) realizaram investigação de MSMD através da análise dos níveis de IL12/IFN γ , após exclusão do diagnóstico de HIV, linfopenia e deficiências de anticorpos e com DHR normal. A idade dos pacientes variou entre 1 e 73 anos (média 19,87 anos). Os principais diagnósticos para a indicação do EIIF foram tuberculose disseminada 12 (24%), leishmaniose visceral 2 (4%), BCGite 4 (8%), infecções graves por salmonela 2 (4%) e infecção por *Micobacterium kansasii* 1 (2%). Destes pacientes, 7 (14%) tiveram o EIIF alterado, todos com provável defeito no receptor IFN γ com dois (4%) com antecedente de consanguinidade na família. **Conclusões:** A MSMD deve ser investigada nos pacientes com infecções por germes intracelulares e HIV. A avaliação funcional do eixo IL12/IFN γ mostrou-se uma ferramenta útil, e mais centros devem se capacitar nessa técnica.

1. UNIFESP - São Paulo, SP, Brasil.

* Trabalho finalista do Prêmio Ernesto Mendes de Incentivo à Pesquisa.

Ensaio multiplex de PCR em tempo real para patógenos gastrointestinais no diagnóstico de diarreia infecciosa na imunodeficiência comum variável

Beatriz Costa Todt¹, Cristina Maria Kokron¹, Myrthes Toledo Barros¹, João Renato Rebello Pinho¹, Cecília Eugênea Charbel¹, Priscila Saihg¹, Octavio Grecco¹, Ana Karolina B.B. Marinho¹, Jorge Kalil¹, Fabiana Mascarenhas Souza Lima¹

Justificativa: Avaliar o uso do painel de PCR multiplex para o diagnóstico de diarreia infecciosa em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável (IDCV) e correlacionar com a presença de diarreia crônica/recorrente e alterações histopatológicas nas biópsias. Diarreia é um dos sintomas mais comuns na IDCV e seu manejo adequado depende de sua etiologia. O ensaio de PCR multiplex para a detecção de patógenos gastrointestinais tem se mostrado superior aos métodos convencionais, porém o seu papel na prática clínica ainda precisa ser definido.

Métodos: Estudo retrospectivo e prospectivo de 42 pacientes com IDCV acompanhados no Ambulatório de Imunodeficiências do HC-FMUSP. Amostras de fezes foram congeladas a -800 °C. A análise de 17 patógenos foi realizada com PCR Multiplex GastroFinder[®] 2SMARTkit. **Resultados:** 24 pacientes (57%) tiveram resultado PCR positivo. Os patógenos mais comuns foram *Campylobacter* em 33% dos casos, *Giardia* em 30%, *E.coli* enteropatogênica em 18%, *Clostridium difficile* e norovírus em 6%. Entre os pacientes com diarreia no momento da coleta de fezes, 70% apresentaram resultado positivo. Curiosamente, 47% dos pacientes sem diarreia crônica/recorrente, também testaram positivo. Na análise dos pacientes com alteração histológica do cólon, 60% com diarreia crônica/recorrente tiveram PCR positivo ($p < 0,01$). **Conclusão:** PCR multiplex é útil para o diagnóstico de patógenos entéricos na IDCV. A presença de diarreia no momento da coleta das fezes aumenta a taxa de positividade dos exames. Entretanto, a detecção de patógenos em pacientes sem diarreia deve ser interpretada com ponderação. Os patógenos encontrados em nossa coorte são semelhantes aos relatados na literatura. A hiperplasia linfóide e a colite crônica são as anormalidades histológicas mais comuns encontradas e correlacionadas com diarreia crônica/recorrente. Concluindo, o PCR multiplex melhorou a detecção de patógenos gastrointestinais, mas a interpretação dos resultados deve ser criteriosa.

1. Hospital das Clínicas, Universidade de São Paulo - São Paulo, SP, Brasil.

* Trabalho finalista do Prêmio Ernesto Mendes de Incentivo à Pesquisa.

A avaliação genética é uma ferramenta essencial na nova era da Imunologia?

Camila Brito de Carvalho¹, Bruna Ribeiro de Oliveira¹, Larissa Said e Said¹,
Amanda Matos Machado¹, Amanda Silva de Oliveira Sobrinho¹, Lara Barbosa da Silva¹,
Luiza Salvador Schmid¹, Mariana de Gouveia Pereira Pimentel¹,
Carolina Sanchez Aranda¹, Dirceu Solé¹

Justificativa: Os erros inatos da imunidade (EII) representam um grupo de doenças responsáveis por alterações imunológicas com suscetibilidade a quadros infecciosos, manifestações autoimunes, inflamatórias e malignidades. Com o avanço da Biologia Molecular, um conhecimento exponencial sobre a etiologia dos EII tem sido possível. O objetivo desse estudo é descrever os exames genético-moleculares de pacientes clinicamente diagnosticados com EII de um centro de referência em Imunologia. **Métodos:** Estudo transversal, retrospectivo, feito pela análise de prontuários eletrônicos de um centro de referência no período de 2019 a 2022. Foram incluídos pacientes que realizaram pelo menos um teste genético (cariótipo para avaliação de instabilidade cromossômica, FISH para Síndrome de DiGeorge (SDG), MLPA para SDG, CGH-Array e sequenciamentos gênicos). A investigação molecular só foi indicada nos pacientes cujo tratamento poderia ser modificado com a elucidação etiológica. **Resultados:** A análise genética foi realizada em 42 pacientes (50% masculino), com idade média ao teste de 8,5 anos (Delta:0-45). Dentre eles, oito fizeram mais de um exame, totalizando 50 testes analisados: seis cariótipos, três MLPA, cinco CGH-Array, quatro sequenciamentos por técnica de Sanger, 27 painéis de genes (com número variável de genes, de acordo com o painel disponível) e cinco sequenciamentos completos do exoma. Em 24 pacientes (57%) foi identificada alguma alteração compatível com EII. O diagnóstico genético modificou a conduta em dez pacientes. **Conclusões:** A avaliação molecular possibilitou o diagnóstico mais preciso e a maior compreensão dos mecanismos fisiopatológicos, validando a importância da Genética na definição etiológica dos EII. Entretanto, a disponibilidade desses testes ainda não é uma realidade em nosso país. Com isso, uma melhor capacitação dos serviços de Imunologia em realizar investigação clínica de maneira lógica mostra-se necessária.

1. Universidade Federal de São Paulo - São Paulo, SP, Brasil.

* Trabalho finalista do Prêmio Ernesto Mendes de Incentivo à Pesquisa.

IL-1 β derivada da ativação do inflamassoma NLRP3 contribui para a reação local à venenos de *Hymenoptera* em indivíduos saudáveis

Paula Lazaretti Morato Castro¹, Suemy Mellim Yamada², Alessandra Pontillo²,
Fabio Fernandes Morato Castro¹, Keity Souza¹, Alexandra Watanabe Sayuri¹,
Leonardo Oliveira Mendonça¹

Justificativa: As reações alérgicas a ferroada de himenópteros, especialmente abelhas, vespas e algumas espécies de formigas, acometem cerca de 3% da população mundial e pouco se sabe sobre os mecanismos imunológicos subjacentes. Levando em conta a já demonstrada capacidade do veneno de abelha em ativar o complexo inflamassoma e a associação de genes do inflamassoma com a predisposição à hipersensibilidade tipo 1, levantamos a hipótese de que indivíduos alérgicos a himenópteros poderiam ter um perfil de superativação do inflamassoma. **Métodos:** O total de 10 indivíduos saudáveis, não alérgicos, foram recrutados para análise prospectiva e ativação do inflamassoma NLRP3 por venenos de *Hymenoptera* (Hym-NLRP3). Macrófagos derivados de monócitos (MDM) de sangue periférico foram desafiados em duas etapas: uma com ATP e outra com extrato de veneno de abelha europeia, vespa paulistana e formiga de fogo. O sobrenadante da cultura foi extraído após cada estímulo e a produção de IL-1 β foi medida através de ELISA. A citotoxicidade celular foi avaliada nos MDM por incorporação de iodeto de propídio (PI). Testes do tipo *t* ou ANOVA foram aplicados para comparar a produção de IL-1 β e a citotoxicidade entre as condições. **Resultados:** Após 4 horas de estímulo, os venenos foram capazes de induzir uma significativa liberação de IL-1 β e incorporação de PI em MDM pré-tratados com LPS e ATP (p-valor = 0,0055). O uso de inibidor específico identificou o NLRP3 como a via de ativação do complexo pelos venenos. **Conclusões:** Os venenos de *Hymenoptera* ativam o inflamassoma NLRP3 no lugar da ferroada, mesmo em não alérgicos, contribuindo na indução de resposta inflamatória local que precede a resposta adaptativa. A análise da adição do Hym-NLRP3 em indivíduos alérgicos poderá identificar novas vias da inflamação derivadas dos venenos de insetos.

1 Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do HC da FMUSP - São Paulo, SP, Brasil.

2. Laboratório de Imunogenética, Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (ICB-USP) - São Paulo, SP, Brasil.

* Trabalho finalista do Prêmio Ernesto Mendes de Incentivo à Pesquisa.

Expressão periférica normal de FOXP3 em pacientes com IPEX: qual o melhor biomarcador?

Alex Isidoro Ferreira Prado¹, Jaqueline Cubo Brandão¹, Danielli Bichuetti², Ligia Maria Machado³, Cristina Maria Kokron⁴, Amanda Melato⁵, Samar Freschi de Barros⁵, Myrthes Toledo Barros⁴, Jorge Kalil⁴, Leonardo Oliveira Mendonça¹

Justificativa: Se outrora a Síndrome IPEX era descrita em pacientes com a tríade clássica, atualmente, casos de pacientes com apenas um sintoma e eventual surgimento de outros ao longo de anos já foram reportados. O diagnóstico final é genético e a expressão periférica de FOXP3 pode variar. **Métodos:** Dados de três pacientes IPEX foram extraídos. Os pacientes foram sequenciados através do genoma. A expressão de FOXP3 em sangue periférico nas Treg (CD3+CD4+FOXP3+) foi mensurada nestes, em controles saudáveis e em outras síndromes imunodesregulatórias. **Resultados:** Enteropatia, eczema e alergia alimentar foi achado universal (P1, P2 e P3). Observou-se frequência variada de autoimunidade, autoinflamação e imunodeficiência entre os pacientes: P1 (múltiplas infecções pulmonares, artrite deficiência de IgA, vitiligo, alopecia areata, anti-músculo liso positivo); P2 (diabetes autoimune, hiper IgE, hipogamaglobulinemia); P3 (alopécia areata, artrite, ANCA c 1/20). Todos carregavam mutações patogênicas no gene FOXP3 (P1 e P3: c.1150 G>A, p.Ala348Thr; P2: c.1117_1118delinsGC, p.Phe373Ala). Observou-se níveis normais de CD3/CD4/CD8/CD19/NK e de células T duplo negativos totais normais (CD3-/CD4-/TCRalfa+/TCRbeta+). Não se observou diferença estatística entre a expressão de FOXP3 entre os pacientes e os controles saudáveis ($p = 0,1$). **Conclusões:** Nossos achados reforçam a importância dos sinais de alerta entre os pacientes com eczema e alergia alimentar. A expressão periférica de FOXP3 não é um bom biomarcador para diagnóstico em mutações missense. O diagnóstico final é genético e variantes de significado incerto no gene FOXP3 requerem maiores estudos.

1. Divisão de Imunologia e Alergia, Centro de Doenças Raras e da Imunidade do Hospital 9 de Julho - Rede DASA - São Paulo, SP, Brasil.
2. Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal de Goiás - Goiânia, GO, Brasil.
3. Departamento de Alergia e Imunologia Pediátrica, Universidade Federal de São Paulo - São Paulo, SP, Brasil.
4. Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da FMUSP - São Paulo, SP, Brasil.
5. LIM-19 - Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da USP - São Paulo, SP, Brasil.

Resposta imune em pacientes ICV induzida após diferentes vacinas para COVID-19

Loisi Carvalho Rodrigues Pereira¹, Jhosiene Yukari Magawa¹,
Andréia Cristina Kazue Kuramoto Takara¹, Greyce Luri Sasahara², Giuliana Xavier Medeiros¹,
Myrthes Anna Maragna Toledo Barros³, Jorge Kalil¹, Ana Karolina Barreto Berselli Marinho³,
Edecio Cunha-Neto¹, Keity Souza Santos¹, Cristina Maria Kokron³

Justificativa: A pandemia de COVID-19 apresentou um desafio para pacientes com Imunodeficiência Comum Variável (ICV). A resposta vacinal desse grupo é um importante tópico de estudo. **Métodos:** 29 pacientes com ICV e 17 indivíduos saudáveis vacinados foram incluídos. Os grupos foram separados como segue: (i) Pós duas doses: CoronaVac (CVac) (N=9), ChAdOx1 (N=9) e BNT162b2 (N=3); (ii) 2 CVac seguido de Booster BNT162b2 (N=10); (iii) 2 doses de CVac com COVID prévia (N=6); (iv) 2 CVac seguido de Booster BNT162b2 com COVID prévia (N=4); (v) controles saudáveis: 2 CVac e booster BNT162b2. Os títulos de neutralização foram avaliados por teste CPE-VNT e os níveis de IgG anti-RBD e Spike foram avaliadas por ELISA, bem como a liberação de IFN- γ e IL-2 induzidas por antígeno para quantificação da resposta celular. **Resultados:** Ter COVID prévia não resultou em resposta aumentada nos pacientes ICV. Indivíduos ICV vacinados com ChAdOx1 apresentaram maiores níveis de anticorpo anti-RBD e -S em relação aos vacinados CVac. Vacinados com ChAdOx1 foram os únicos a produzirem anticorpos neutralizantes contra as linhagens Wuhan, Delta e Gama. A resposta celular foi baixa independentemente da plataforma vacinal e não compensou a baixa resposta humoral, como esperado. Um booster com BNT162b2 após 2 CVac aumentou os níveis de anticorpos, mas ainda foi menor do que 2 doses de ChAdOx1. O melhor esquema vacinal, 2 doses ChAdOx1, induziu no grupo ICV níveis de anticorpos similares aos indivíduos saudáveis, entretanto ao compararmos VNT, ICV produziu níveis significativamente menores do que os controles. **Conclusões:** Duas doses de ChAdOx1 induziu resposta imune maior do que regime de vacina inativada com booster de RNAm em pacientes ICV e comparável aos níveis dos saudáveis. Entretanto, o nível de VNT dos ICV é menor do que os saudáveis, indicando uma produção de anticorpos ineficiente para neutralizar o vírus, mesmo no melhor regime vacinal observado para essa população.

1. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo, SP, Brasil.

2. Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da USP - INCOR - São Paulo, SP, Brasil.

3. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP - São Paulo, SP, Brasil.



Triagem neonatal para erros inatos da imunidade: experiência de vida real

Larissa Said e Said¹, Carolina Sanchez Aranda¹,
Barbara Cristina Ferreira Ramos¹, Amanda Matos Machado¹, Camila Brito de Carvalho¹,
Lara Novaes Teixeira¹, Luiza Salvador Schmid¹, Mariana de Gouveia Pereira Pimentel¹,
Antonio Condino Neto², Dirceu Solé¹

Justificativa: Desde março de 2021, a cidade de São Paulo introduziu a expansão da Triagem neonatal (TN) com a identificação de TREC's e KREC's. Neste momento poucos países implementaram TREC/KREC em sua rotina. O objetivo do nosso estudo foi analisar os primeiros 17 meses após o início do programa. **Métodos:** Todos os exames com valor de TREC's inferior a 25 cópias/uL e/ou KREC's inferior a 20 cópias/UI foram considerados anormais e, portanto, encaminhados para um único Ambulatório de Imunologia para avaliação. Os dados foram obtidos por análise retrospectiva dos prontuários. **Resultados:** Recebemos até julho de 2022, 142 crianças em nosso Centro de referência (1 triagem alterada para cada 1700 nascidos vivos). 21 bebês tiveram TREC<25, destes 5 SCIDs foram diagnosticados (incidência estimada em 1:48.000 nascidos vivos). Em relação ao KREC alterado, tivemos 127 crianças, o que reflete uma gama maior de possíveis resultados falsos positivos. Dentre estes, 11 crianças apresentaram CD19<1%. Após 6 meses, os linfócitos B se recuperaram em 10 pacientes (2 filhos de mãe com LES, 3 filhos de mães transplantadas renais e 5 mães com hipertensão gestacional) e 1 diagnóstico de possível agamaglobulinemia. Houve um resultado que mostrou TREC baixo com KREC elevado que culminou na diagnóstico de Leucemia Mielomonocítica juvenil. **Conclusões:** A TN é revolucionária pois permite a suspeita precoce de doenças tratáveis. Após a implementação da triagem em São Paulo, conseguimos fazer 5 diagnósticos de SCIDs, 1 paciente em investigação para agamaglobulinemia e transcendemos fronteiras fazendo um diagnóstico de Leucemia. Em nossa amostra pudemos observar um grande número de KREC alterados falsos positivos, porém pode ser uma nova ferramenta para melhorar o entendimento do desenvolvimento de células B e patologias relacionadas a elas.

1. UNIFESP - São Paulo, SP, Brasil.
2. USP - São Paulo, SP, Brasil.

A detecção de anticorpo anti-TPO em pacientes pediátricos que recebem imunoglobulina intravenosa é um achado preocupante?

Paulo Victor Ferreira Mai¹, Thais Costa Lima de Moura¹, José Roberto Mendes Pegler¹,
Mayara Lorena de Souza¹, Beni Morgenstern¹, Mayra de Barros Dorna¹,
Antônio Carlos Pastorino¹, Ana Paula Moschione Castro¹

Justificativa: Nos pacientes com erros inatos da imunidade (EII), frequentemente é preciso realizar reposição de imunoglobulina. Nestes pacientes, é comum realizar a dosagem de anticorpo anti-TPO como forma de triagem de autoimunidades. Questiona-se se o achado de anti-TPO positivo seria relevante clinicamente, uma vez que pode ser proveniente da própria imunoglobulina. **Métodos:** Foi realizado o levantamento de 30 pacientes com EII que recebem imunoglobulina em um hospital pediátrico terciário. Através de pesquisa em prontuário, foram coletados dados demográficos e clínicos, além de valores de anti-TPO, TSH e T4 livre destes pacientes. Os casos com diagnóstico prévio de hipotireoidismo (3/30) foram excluídos. **Resultados:** Dos 27 pacientes avaliados, a média de tempo de uso de imunoglobulina mensal foi de 57,5 meses. 11/27 pacientes possuíam anticorpo anti-TPO coletado antes do início das infusões, todos com resultado negativo. 23/27 pacientes tinham anti-TPO coletado após o início das infusões de gamaglobulina. Desses, 21/23 apresentaram anti-TPO positivo após início da gamaglobulina e apenas 2/23 mantiveram todas as dosagens negativas. O valor médio das dosagens de anti-TPO positivo foi de 13,7 IU/mL (referência < 9 IU/mL). Foi observado, ainda, que dos 21 pacientes com anti-TPO positivo, 17/21 tiveram flutuação dos valores, ora positivos, ora negativos. Nenhum desses 21 pacientes apresentou alteração da função tireoideana. **Conclusões:** A detecção de anti-TPO foi muito frequente em pacientes pediátricos com EII que recebem imunoglobulina, mas em nenhuma ocasião se refletiu clinicamente em alteração da função tireoideana. A interpretação deste exame, quando realizado como triagem de autoimunidade, deve ser muito criteriosa, uma vez que o uso de imunoglobulina humana pode afetar o seu resultado.

1. Instituto da Criança e do Adolescente (ICr HCFMUSP) - São Paulo, SP, Brasil.