



## Aspectos clínicos de pacientes sob suspeita de defeito fagocitário

*Clinical profile of patients suspected of having phagocyte defects*

Carolina Prando-Andrade<sup>1</sup>, Marcia Buzolin<sup>2</sup>, Jussara Rehder<sup>3</sup>, Anete Grumach<sup>4</sup>,  
Beatriz T. Costa-Carvalho<sup>5</sup>, Antonio Condino-Neto<sup>6</sup>.

### Resumo

**Objetivo:** Analisar aspectos clínicos de pacientes com infecções graves e/ou de repetição sugestivas de distúrbio fagocitário encaminhados a um laboratório especializado para avaliação do sistema NADPH oxidase.

**Métodos:** Foram estudados 53 pacientes com suspeita de defeito no sistema NADPH oxidase. A avaliação laboratorial constou de teste do NBT e dosagem de ânion superóxido liberado por neutrófilos e células mononucleares. Os pacientes foram classificados em grupo I com Doença Granulomatosa Crônica (DGC) e grupo II sem doença determinada.

**Resultados:** O grupo I foi composto por 20 pacientes e o grupo II por 33 pacientes. As infecções pulmonares foram as mais frequentes nos dois grupos, seguidas de adenites, infecções cutâneas e abscessos profundos no grupo I e otite média, infecção de pele e amigdalite no grupo II. Observou-se diferença estatisticamente significativa para infecção urinária ( $p=0,0097$ ), abscessos profundos ( $p=0,0012$ ) e linfadenopatias ( $p=0,0003$ ). Reação adversa à vacina BCG foi observada em cinco pacientes do grupo I e apenas um paciente do grupo II ( $p=0,0240$ ). A história familiar de infecção de repetição foi referida por doze pacientes do grupo I e por 8 pacientes do grupo II ( $p=0,0181$ ).

**Conclusão:** A presença de história familiar de infecção de repetição, reação à vacina BCG, linfadenites e abscessos profundos apresentaram associação ao grupo com diagnóstico bioquímico de DGC. Infecção urinária esteve associada ao grupo sem diagnóstico definido, mas com suspeita clínica de defeito de fagócito.

*Rev. bras. alerg. imunopatol. 2005; 28(4):187-193* imunodeficiência, doença granulomatosa crônica, fagócitos, superóxidos, BCG, infecção.

### Abstract

**Objective:** To study the clinical profile of patients with severe and/or recurrent infections, being suspected to present phagocyte disturbances, referred to a specialized laboratory to investigate the NADPH oxidase system.

**Methods:** Fifty-three patients were analyzed. Laboratory evaluation consisted of NBT test and superoxide release assay by phagocytes. Patients were classified in group I with Chronic Granulomatous Disease and group II with unknown disease.

**Results:** Twenty patients were classified in group I and 33 patients in group II. Pneumonia was the most frequent infection in both groups, followed by lymphadenitis, cutaneous infection and abscesses in group I; and otitis, cutaneous infection and tonsillitis in group II. Statistically significant difference was observed for urinary tract infections ( $p=0.0097$ ), profound abscesses ( $p=0.0012$ ) and lymphadenopathy ( $p=0.0003$ ). Adverse reactions to BCG were present 5 group I patients and in 1 group II patient ( $p=0.0240$ ). A history of familiar recurrent infections was present in 12 patients from group I and 8 patients from group II ( $p=0.0181$ ).

**Conclusion:** Familiar history of recurrent infections, adverse reaction to BCG, lymphadenopathy and profound abscesses were associated to group I. Urinary tract infection was associated to group II.

*Rev. bras. alerg. imunopatol. 2005; 28(4): 187-193* immunodeficiency, chronic granulomatous disease, phagocyte, superoxide, BCG, infection.

### Introdução

A Doença Granulomatosa crônica (DGC) é imunodeficiência primária que consiste em disfunção fagocitária, na qual a produção de superóxido pela cadeia de NADPH oxidase está ausente ou bastante prejudicada. Como consequência da falha da produção dos metabólitos necessários

para a atividade microbicida intracelular, pacientes com DGC sofrem com infecções bacterianas e fúngicas graves e recorrentes<sup>1,2</sup>. A doença caracteriza-se, também, por resposta inflamatória anormal, levando à formação de granulomas<sup>1,3</sup>. É estimado que esta doença acometa um em cada 200.000 a 250.000 nascidos vivos nos Estados Unidos da América<sup>3</sup>.

1. Mestre em Pediatria, Professora Assistente do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Pontifícia Universidade Católica de Campinas.
2. Aluna de iniciação científica da FCM-UNICAMP
3. Bióloga do Centro de Investigação em Pediatria e Departamento de Pediatria, FCM-UNICAMP.
4. Doutora em Pediatria. Pesquisadora do LIM-56, Faculdade de Medicina da USP.
5. Doutora em Medicina. Professora Adjunto do Departamento de Pediatria da Escola Paulista de Medicina- UNIFESP.
6. Livre-Docente, Professor Associado do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e do Departamento de Pediatria da FCM-UNICAMP.

\*Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 01/14365-3 e 02/05880-4), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 302685/02, 470413/03).

Artigo submetido em 20.06.2005, aceito em 12.09.2005.

A explosão respiratória, que está comprometida na DGC, é um importante componente do sistema de imunidade inata e sua ausência implica em infecções bacterianas e fúngicas graves e recorrentes, podendo, também, levar à formação de granulomas. A explosão respiratória envolve a conversão catalítica do oxigênio molecular para ânion superóxido ( $O_2^-$ ), um produto intermediário que é convertido em peróxido de hidrogênio  $H_2O_2$  pela enzima superóxido dismutase. A enzima mieloperoxidase atua sobre esse composto, transformando-o em ácido hipocloroso (HClO). Embora inativado nas células em repouso, esse processo é rapidamente ativado por estímulos inflamatórios e fisiológicos, tais como a fagocitose<sup>1,2,4</sup>.

As subunidades do sistema NADPH oxidase recebem sua nomenclatura de acordo com sua massa molecular aparente e a designação phox por "phagocyte oxidase". Existem pelo menos seis componentes dessa oxidase: p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> e p40<sup>phox</sup>, como partes do complexo citosólico; rac2, uma proteína citosólica do tipo ras; p22<sup>phox</sup> e gp91<sup>phox</sup>, componentes de membrana que compõem o citocromo *cyt b<sub>558</sub>*<sup>4-6</sup>.

A proteína gp91<sup>phox</sup> é codificada pelo cromossomo X. Aproximadamente dois terços dos casos de DGC resultam de defeitos ligados ao cromossomo X<sup>1-3</sup>. A p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> e p67<sup>phox</sup> são codificadas por cromossomos autossômicos 16, 7 e 1, respectivamente. Defeito em qualquer um desses componentes leva à DGC<sup>6-8</sup>.

As manifestações clínicas da DGC iniciam-se na infância, geralmente já no primeiro ano<sup>3,8,9</sup>. A susceptibilidade de pacientes a infecções também é mais restrita à classe de microorganismos que apresentam a enzima catalase<sup>1,3,6</sup>. A catalase inativa a enzima mieloperoxidase, impedindo a formação de ácido hipocloroso. Em contraste, os fagócitos utilizam peróxido de hidrogênio gerado pelos patógenos catalase-negativos para promover a morte dos organismos ingeridos<sup>1</sup>.

A principal apresentação clínica da DGC é a ocorrência de infecções em superfícies em direto contato com o ambiente externo, como a pele, pulmões e trato gastrointestinal. Linfadenite é a manifestação clínica mais comum, seguida de abscessos cutâneos, pneumonia e hepatomegalia<sup>9</sup>. Quadros sépticos não são tão frequentes e estão relacionados principalmente a eventos terminais<sup>10</sup>.

O acompanhamento a longo prazo de pacientes com DGC revelou que com o passar dos anos, sintomas de obstrução de órgãos e inflamações não associadas diretamente a infecções podem aparecer. É freqüente, portanto, a presença de granulomas difusos que podem se tornar grandes o suficiente para causar sintomas dolorosos e obstruções no esôfago, estômago, bexiga urinária<sup>6,8</sup>. Em alguns casos, a formação do granuloma surge como uma resposta à infecção ativa, mas pode também refletir uma resposta inflamatória desregulada, ou mesmo uma degradação ineficiente de restos de microorganismos frente à deficiência da explosão respiratória<sup>1</sup>.

É bem documentada a associação de complicações infecciosas pelo Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) com imunodeficiências primárias<sup>11</sup>, sendo este o evento desencadeante da pesquisa de alterações imunológicas em alguns pacientes com diagnóstico de DGC<sup>11,12</sup>.

A maioria das infecções em pacientes com DGC é causada pelo *Staphylococcus aureus*, por bacilos entéricos gram-negativos e micobactérias; entretanto, agentes oportunistas são também importantes patógenos. Entre os gram-negativos, a *Burkholderia cepacia* é uma causa comum de pneumonia, podendo evoluir rapidamente para sepse; essa bactéria é considerada altamente específica para DGC, além da fibrose cística, e geralmente é resistente aos antibióticos convencionais<sup>13</sup>. O *Aspergillus sp* é um dos principais agentes causadores das infecções pulmonares e tende a invadir os tecidos adjacentes e os ossos da cavidade to-

rácica<sup>14-16</sup>.

O diagnóstico de DGC tem como base a história clínica compatível e a demonstração de falha no processo de explosão respiratória. Um dos principais métodos para a detecção de oxidantes reativos é o método de nitroblue tetrazolium (NBT). Este método consiste na redução intracelular de NBT pelo ânion superóxido, transformando-o em formazam precipitado que pode ser visualizado microscopicamente quando o teste é realizado em indivíduos normais<sup>17</sup>. Métodos mais sensíveis baseiam-se na reação de oxidantes em ensaios fluorescentes e quimioluminescentes específicos<sup>18</sup>.

Em seguida, é importante a caracterização genético-molecular da doença, segundo o grupo Pan-Americano de Estudo em Imunodeficiências Primárias (PAGID): mutações em qualquer uma das subunidades da NADPH oxidase, ausência de mRNA observado por análise de "Northern blot" para um dos genes codificadores das respectivas subunidades; mãe, primos, tios ou sobrinhos com alteração do teste de NBT ou explosão respiratória<sup>19</sup>.

Os cuidados profiláticos são de extrema importância para os indivíduos com DGC. Estes cuidados incluem a prevenção das infecções por meio de imunizações e remoção das fontes de patógenos; o uso de antibiótico profilático e o uso de interferon-gama humano recombinante. Todos os pacientes devem receber as imunizações de rotina (incluindo as vacinas de vírus atenuados), bem como a vacina anual contra influenza. Vacinas contendo microrganismos vivos atenuados, como a BCG, são contra-indicadas, devido ao risco de reações adversas graves e potencialmente fatais em imunodeficientes<sup>11,12</sup>.

## Casuística e Métodos

### Casuística

Foram avaliados 53 pacientes encaminhados para o Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), com suspeita de imunodeficiência primária por alteração nas células fagocíticas, para que fosse realizado estudo do sistema NADPH oxidase. Os pacientes foram encaminhados de diversos serviços e apresentavam história sugestiva de defeito fagocitário, em particular DGC.

Todos os procedimentos foram autorizados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCM-Unicamp. Após o aceite do termo de consentimento esclarecido, foram realizadas anamnese detalhada e revisão de prontuário e coletada amostra de sangue venoso para os testes laboratoriais, que incluíram teste do NBT e dosagem de ânion superóxido.

Os dados clínicos considerados relevantes para pesquisa de imunodeficiência primária na anamnese e analisados neste estudo foram: locais acometidos por infecção em cada paciente, microrganismos isolados por cultura em vigência de infecção; reação vacinal; história familiar de infecção de repetição e/ou imunodeficiência primária. Também foi analisado o motivo pelo qual se iniciou a pesquisa de imunodeficiência para cada paciente, além do tempo decorrido entre a primeira manifestação infecciosa e o início da investigação imunológica.

Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com os resultados dos testes realizados em nosso laboratório (grupo I- pacientes com Doença Granulomatosa Crônica; grupo II- pacientes sem doença determinada).

### Coleta de sangue venoso periférico

A coleta de sangue foi realizada por meio de punção de veia periférica, com material estéril e descartável. Foram coletados 5ml para a realização do teste do NBT e 10ml para a dosagem de ânion superóxido.

**Teste do NBT**

O teste do NBT foi realizado com 5ml de sangue venoso colocados, imediatamente após a coleta, sobre lâmina de vidro previamente incubada a 37°C por 30 minutos. Foram preparadas duas lâminas para cada paciente: uma lâmina das células em repouso, sobre a qual foi adicionado o corante NBT (Sigma N-6876) e PBS numa concentração de 1mg/ml acrescido de 1µl/ml de dimetilsulfóxido (DMSO), e outra lâmina em que as células foram estimuladas com acetato de forbol-miristato (PMA, 1 µg/ml, concentração final). Todos os ensaios foram realizados simultaneamente com um controle sadio<sup>20,21</sup>.

Como este teste deve ser realizado imediatamente após a coleta de sangue, ele foi realizado apenas para os pacientes que puderam comparecer ao laboratório.

**Obtenção de Neutrófilos e Células Mononucleares do Sangue Periférico**

A preparação da suspensão de neutrófilos e células mononucleares como populações celulares puras a partir do sangue periférico foi realizada utilizando-se um "kit" com gradientes de densidade descontinuos (Sigma Histopaque 1.077 g/ml e 1.119 g/ml, St. Louis, E.U.A.) de acordo com as instruções do fabricante<sup>22</sup>. A pureza das populações de neutrófilos e de células mononucleares foi, em média, de 95%, com viabilidade superior a 90%, avaliada pelo azul de tripan.

**Dosagem do Ânion Superóxido Liberado por Neutrófilos e Células Mononucleares**

A liberação de superóxido foi medida pelo ensaio modificado de redução do citocromo c inibida pela enzima superóxido dismutase (SOD)<sup>23-25</sup>. A produção de ânion superóxido foi calculada usando-se um coeficiente de extinção de 21.100 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e os resultados expressos em nmols/

10<sup>6</sup> células/hora. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

**Análise Estatística**

Os dados obtidos na anamnese foram submetidos à análise exploratória. As comparações entre os dois grupos foram realizadas pelo teste exato de FISCHER bicaudal, levando-se em consideração o nível de significância de 5%<sup>26</sup>.

**Resultados**

Foram estudados 53 pacientes, divididos em dois grupos de acordo com os resultados dos exames de NBT e/ou superóxido.

O grupo I, com 20 pacientes, corresponde aos pacientes com testes laboratoriais compatíveis com o diagnóstico de DGC, ou seja, apresentaram falha na produção de ânion superóxido quando estimulados com PMA, em comparação com um controle sadio e/ou seus granulócitos não foram capazes de reduzir o NBT quando estimulados por PMA. O grupo II contém 33 pacientes com história clínica e testes laboratoriais que não confirmaram o diagnóstico de DGC.

A pesquisa de imunodeficiência fagocitária foi iniciada devido ao histórico de infecções de repetição em 33 casos (62,2%). Em 15 (28,3%) pacientes o motivo do estudo foi a manifestação grave de alguma infecção. Em três casos (5,6%), pertencentes ao grupo I, havia história familiar sugestiva de imunodeficiência, sendo que dois pacientes apresentavam familiares com diagnóstico de DGC. Para os outros dois (3,7%) pacientes foi feita a pesquisa de DGC por apresentarem massas (cervical e abdominal) em investigação. A distribuição dos casos em cada grupo ocorreu conforme demonstra a tabela 1.

**Tabela 1** - Motivo do encaminhamento para investigação de imunodeficiência fagocitária

	Grupo I	Grupo II	Total	
			Absoluto	Relativo
História Familiar	3	0	3	5,6
Infecção de Repetição	12	21	33	62,2
Investigação de Massa	1	1	2	3,7
Infecção Grave	4	11	15	28,3
Total	20	33	53	100

Grupo I: Doença granulomatosa crônica

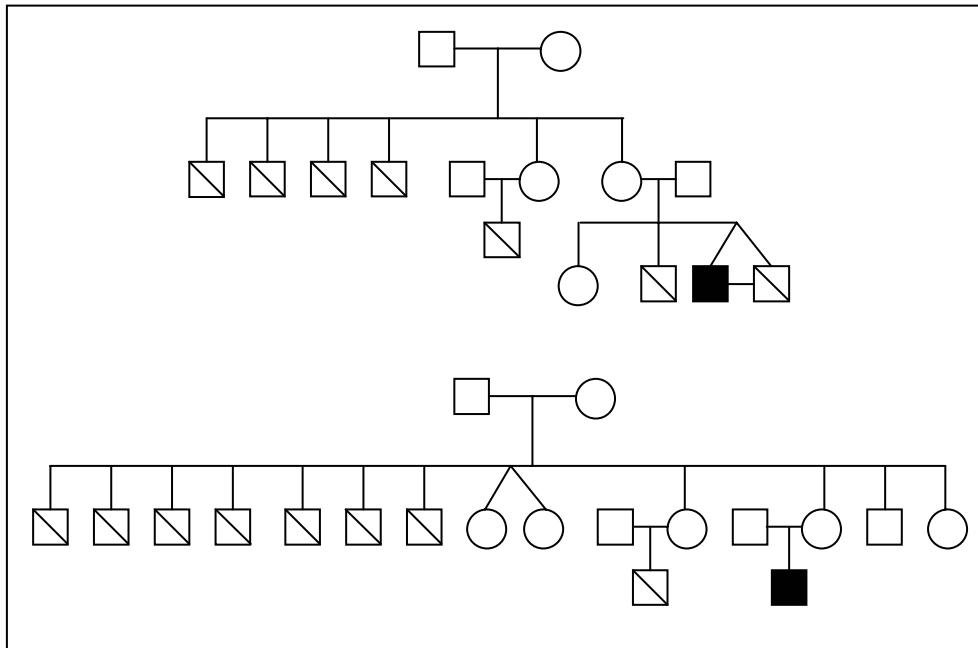
Grupo II: Sem doença definida

Após realizada a anamnese e revisão de prontuário foi constatada a presença de história de infecções de repetição em familiares de doze pacientes do grupo I e oito pacientes do grupo II. Este dado apresentou forte associação ao grupo com diagnóstico bioquímico de DGC ( $p=0,0181$ ). Entre os doze pacientes com este dado positivo no grupo I, apenas três foram encaminhados para avaliação antes do início de infecções graves (figura 1).

Entre os 20 pacientes incluídos no grupo I, 80% são homens. A média de idade à primeira infecção foi de 20,84 meses (mínimo 15 dias de vida, máximo 120m; mediana seis meses) e a idade média de diagnóstico foi de 53,33 meses (mínimo dois meses, máximo 156m; mediana 36m). 25% desses pacientes apresentam história de reação vacinal, e 60% apresentam história familiar de infecções de repetição.

O grupo II é composto por 47% de homens e 53% mulheres. A média de idade da primeira infecção foi de 19,90 meses (mínimo 15 dias de vida, máximo 84 meses; mediana nove meses). Somente em 1 paciente há história de reação adversa à BCG, e 8 pacientes apresentam histórico familiar relevante.

Dentre os microorganismos presentes em infecções nos pacientes do grupo I (tabela 2), houve grande variedade de patógenos. Dois pacientes apresentaram abscessos profundos, sendo um renal e um hepático, ambos com cultura positiva para *Staphylococcus aureus*. Somente nesse grupo foi isolada a bactéria *Burkholderia cepacia*, em uma hemocultura, fragmento pulmonar e linfonodo. Houve também a identificação do *Aspergillus* como causa de uma pneumonia. Os lavados brônquicos realizados em diversos pacientes revelaram diversos microorganismos: *Cândida sp*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella sp*; *Pseudomonas*.



**Figura 1 - Heredograma de dois pacientes com DGC.** Apesar do histórico de infecções de repetição em familiares extremamente importante, estes pacientes não foram encaminhados para investigação de imunodeficiência antes do início dos sintomas. Os pacientes estão representados por (■), e os familiares com infecção de repetição e conseqüente óbito estão representados por um traço diagonal.

**Tabela 2 - Microrganismos isolados nas culturas de material dos pacientes em estudo.**

	Grupo I	Grupo II
<i>Staphylococcus aureus</i>	Fígado, pele, hemocultura, linfonodo.	Abscesso perineal, sistema nervoso central, secreção ocular, pele, hemocultura, osso, líquido sinovial.
<i>Burkholderia cepacea</i>	Hemocultura, linfonodo, pulmão.	
<i>Pseudomonas sp</i>	Pele.	Hemocultura, pele.
<i>Serratia marcescens</i>	Linfonodo.	
<i>Klebsiella sp</i>	Lavado broncoalveolar, pele.	Hemocultura, pele.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Lavado broncoalveolar.	
<i>Micobacterium sp</i>		Líquido sinovial ( <i>M. sp</i> ), lavado broncoalveolar ( <i>M. tuberculosis</i> ).
<i>Aspergillus sp</i>	Pulmão.	
<i>Cândida sp</i>	Hemocultura ( <i>C. parapsilosis</i> ), lavado broncoalveolar ( <i>C. sp</i> ) e pele ( <i>C. sp</i> ).	Língua ( <i>C. albicans</i> ).

Grupo I: Doença granulomatosa crônica  
 Grupo II: Sem doença definida

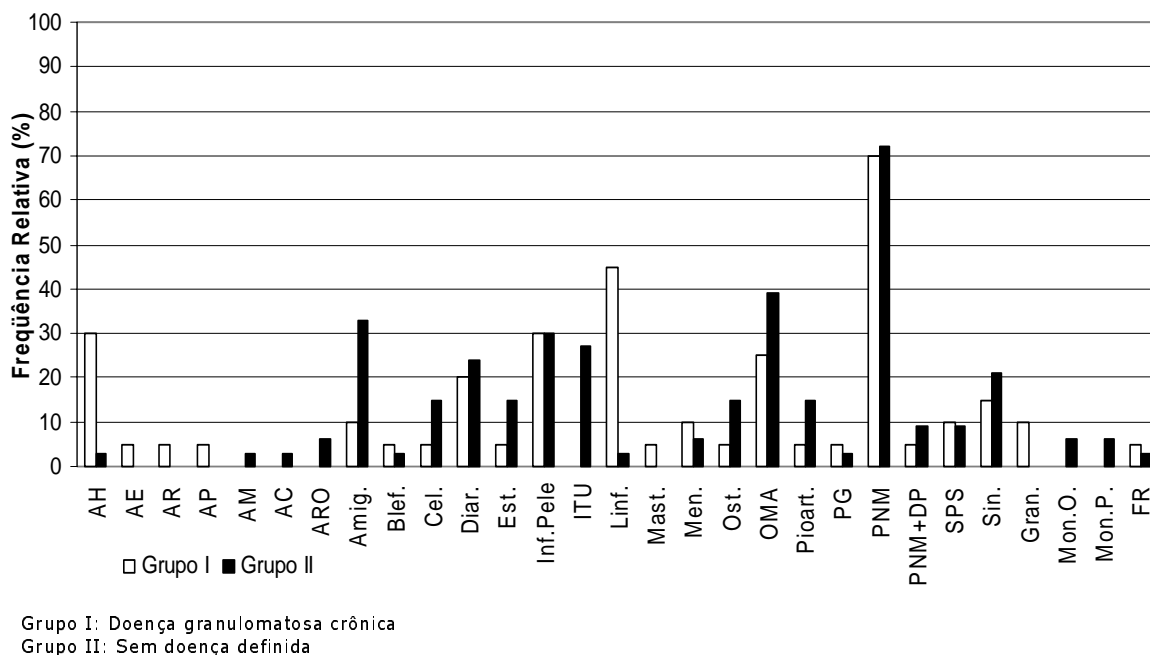
No grupo II, o microorganismo mais isolado foi o *Staphylococcus aureus* (tabela 2). Ele foi encontrado em hemocultura, lesões de pele, em abscessos profundos (perineal, em fêmur e cérebro), e também em secreção ocular. A presença de micobactérias foi identificada em secreção pulmonar e brônquica e em líquido sinovial.

Reação adversa à vacina BCG foi observada em cinco pacientes do grupo I e apenas um paciente do grupo II (p=0,0240). Um dos pacientes do grupo I evoluiu para óbito após um quadro de BCG disseminada.

Até o início da investigação de imunodeficiência primária, a maioria dos pacientes do grupo I havia apresentado pneumonia (70%), seguida de adenites, infecções cutâneas e abscessos profundos. No grupo II, predominaram também as pneumonias (72,7%), entretanto seguidas de otites, infecção de pele e amigdalite (figura 2). Observou-se diferença estatisticamente significativa para infecção urinária, presente em nove pacientes no grupo II e sem representantes no grupo I (p=0,0097). Em nove pacientes do grupo I e em dois pacientes do grupo II ocorreu a forma-

ção de abscessos profundos ( $p=0,0012$ ), com destaque para a presença de abscesso hepático ( $n=6$  no grupo I,  $n=1$  no grupo II;  $p=0,0079$ ). Linfadenite esteve presente

em nove pacientes do grupo I e apenas em um paciente do grupo II ( $p=0,0003$ ).



**Figura 2 - Frequência relativa das infecções apresentadas pelos pacientes em estudo.** As infecções estão representadas por: **AH**-abscesso hepático; **AE**-abscesso esplênico; **AR**-abscesso renal; **AP**-abscesso pulmonar; **AM**-abscesso muscular; **AC**-abscesso cerebral; **ARO**-abscesso retro-orbitário; **Amig.**-amígdala; **Blef**-blefarite; **Cel**-celulite; **Diar**-diarréia; **Est**-estomatite; **Inf.Pele**-infecção de pele; **ITU**-infecção de trato urinário; **Linf**-linfadenite; **Mast**-mastoidite; **Men**-meningite; **Ost**-osteomielite; **OMA**-otite média aguda; **Pioart**-pioartrite; **PG**-pioderma gangrenoso; **PNM**-pneumonia; **PNM+DP**-pneumonia com derrame pleural; **SPS**-septicemia; **Sin**-sinusite; **Mon.O**-monilíase oral; **Mon.P**- monilíase perineal, **FR**- febre recorrente.

Os pacientes do grupo I continuam sendo acompanhados e estão sob investigação para identificar a mutação responsável pelo fenótipo da DGC, em nosso laboratório. Os pacientes do grupo II permanecem em investigação para esclarecimento do diagnóstico nos serviços de origem.

## Discussão

Os dez Sinais de Alerta para Imunodeficiência Primária na Criança, adaptados da Fundação Jeffrey Modell e Cruz Vermelha Americana para o nosso meio podem ser consultados no site [www.imunopediatria.org.br](http://www.imunopediatria.org.br) e são:

1. Duas ou mais pneumonias no último ano
2. Quatro ou mais novas otites no último ano
3. Estomatites de repetição ou monilíase por mais de dois meses
4. Abscessos de repetição ou ectima
5. Um episódio de infecção sistêmica grave (meningite, osteoartrite, septicemia)
6. Infecções intestinais de repetição / diarréia crônica
7. Asma grave, doença do colágeno ou doença auto-imune
8. Efeito adverso ao BCG e/ou infecção por micobactéria
9. Fenótipo clínico sugestivo de síndrome associada a Imunodeficiência
10. História familiar de imunodeficiência

No Brasil, até maio de 2004 foram notificados oficialmente ao Grupo Brasileiro de Estudo de Imunodeficiências Primárias (BRAGID) 569 casos de imunodeficiência primária,

sendo 24 de Doença Granulomatosa Crônica. Considerando que a população brasileira é de aproximadamente 165 milhões e a incidência da DGC é de aproximadamente 1: 200.000, o número de casos notificados até o momento encontra-se muito aquém da estimativa. É possível que uma parcela da comunidade médica no Brasil não esteja atenta para os sinais de alerta para imunodeficiências primárias, retardando, ou mesmo negligenciando o diagnóstico. O não encaminhamento desses pacientes para os centros de referência regionais pode vir a comprometer a investigação dessas doenças.

Uma vez que o paciente apresente clínica compatível com DGC deve-se realizar os testes bioquímicos para comprovar ou excluir a doença. Atualmente dispõe-se, além do teste do NBT e da dosagem do ânion superóxido liberado por neutrófilos e células mononucleares, o teste da dihidrorodamina, que é realizado por citometria de fluxo. É possível a identificação de mulheres portadoras sadias de DGC através do teste da dihidrorodamina ou do NBT, entretanto este último não requer equipamentos sofisticados para a sua realização.

No grupo de pacientes com diagnóstico de DGC a média de idade do diagnóstico de DGC pode ser considerada tardia (53,33 meses), com mediana de 36 meses. A média elevada pode ser atribuída ao fato de dois pacientes terem sido diagnosticados com dez anos de idade.

Embora a análise molecular para a identificação da mutação no sistema NADPH não esteja definida para todos os pacientes, essa observação pode ser correlacionada com a literatura. É sabido que aproximadamente dois terços dos casos de DGC resultam de defeitos ligados ao cromossomo X<sup>1-3</sup> devido a alterações no funcionamento da gp91<sup>phox</sup>, que

é codificada por esse cromossomo<sup>6-8</sup>. O grupo II não apresentou diferença significativa entre os dois sexos.

A deficiência no funcionamento da explosão respiratória, conforme ocorre nos pacientes com DGC, aumenta a incidência de infecções em superfícies de contato direto com o meio externo e linfonodos que drenam estas áreas<sup>9</sup>. Há referências na literatura que colocam a linfadenite em primeiro lugar, seguida de abscessos cutâneos, pneumonia e comprometimento hepático<sup>9</sup>. Abscesso hepático e linfadenite foram infecções que apresentaram importante associação com DGC ( $p=0,0079$  e  $p=0,0003$  respectivamente).

As infecções pulmonares são a forma mais comum de infecção invasiva na DGC<sup>3,10,27,28</sup> e estiveram presentes em 70% ( $n=14$ ) dos pacientes do grupo I, sendo também a infecção mais freqüente no grupo II (72,7%). O envolvimento pulmonar está associado a aumento significativo da morbidade e da mortalidade, uma vez que pneumonias de repetição podem evoluir para pneumopatia crônica, caracterizada por infiltrado granulomatoso e fibrose pulmonar em pacientes adultos ou pediátricos<sup>29</sup>.

O trato gastrointestinal é local freqüente de complicações infecciosas e/ou inflamatórias na DGC<sup>10</sup>. Mulholland et al., 1983<sup>30</sup> encontraram acometimento gastrointestinal em 55% dos pacientes acompanhados num período de dez anos, estando estes eventos relacionados a 18% do total de internações. A complicação mais freqüente na casuística apresentada por aquele autor foi o abscesso hepático, que esteve presente em seis pacientes do grupo I deste estudo. Antes de estabelecido o diagnóstico de DGC e instituídas as medidas profiláticas, um desses pacientes apresentou oito episódios de abscesso hepático, todos tratados com drenagem cirúrgica e antibióticos parenterais.

A infecção urinária de repetição esteve fortemente associada ao grupo II, sem representantes no grupo I. No grupo I a única forma de acometimento de vias urinárias aconteceu na forma de abscesso renal. Infecções urinárias de repetição têm maior associação com fatores hormonais e anatômicos do que imunológicos<sup>31-35</sup>. Assim, é prudente a investigação da anatomia das vias urinárias e da possibilidade de granulomas causando obstrução em vias urinárias de pacientes com DGC apresentando infecção urinária de repetição.

Os pacientes de ambos os grupos apresentavam infecções causadas por agentes comuns na DGC. Os microrganismos que produzem peróxido de hidrogênio e não contêm catalase podem ser destruídos pelos neutrófilos de pacientes com DGC, uma vez que seu peróxido de hidrogênio endógeno reage com os cloretos dos fagolisossomas, na presença da mieloperoxidase, gerando ácido hipocloroso. O *Staphylococcus aureus* foi o agente isolado com maior freqüência. Entretanto, a *Burkholderia cepacia*, apresentada na literatura como altamente específica para DGC, foi isolada apenas em pacientes do grupo I, como causa de pneumonia e sepse em um paciente e adenite em outro<sup>13</sup>. O *Aspergillus* é um patógeno importante como causa de pneumonia na DGC, e foi causa de pneumonia em um paciente do grupo I.

É de extrema importância que o diagnóstico de DGC seja feito precocemente para que os cuidados profiláticos sejam instituídos, a fim de se evitar seqüelas que possam ocorrer em razão dos processos infecciosos. Também é importante o diagnóstico precoce para o adequado aconselhamento genético devido à característica hereditária da DGC.

Um dado que poderia alertar o médico para a pesquisa de imunodeficiência em seu paciente é a história de infecção de repetição em familiares. De fato, a história positiva de infecções de repetição apresentou forte associação com o grupo de diagnóstico bioquímico de DGC, entretanto, apesar do grande número de óbitos decorrentes de processos infecciosos em familiares, apenas três de 20 pacientes,

dois com irmãos previamente diagnosticados para DGC, foram encaminhados para avaliação antes do início de processos infecciosos graves.

Com relação aos cuidados de prevenção, deve-se ressaltar a contra-indicação de vacinas contendo bactérias vivas atenuadas, como a BCG, devido ao risco de reações adversas graves, ressaltando que a presença de reação adversa a este imunobiológico apresentou associação com o grupo de pacientes com DGC ( $p=0,0240$ )<sup>11,12,36,37</sup>. No Brasil, a BCG é a primeira vacina a ser aplicada, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde e da Sociedade Brasileira de Pediatria. Identificamos, entre os pacientes com diagnóstico de DGC, cinco que apresentaram reação a esta vacina, incluindo um paciente com BCG disseminada. Destas crianças, duas apresentavam história familiar de infecção de repetição e os pais poderiam ter sido alertados para investigação do sistema imunológico da criança antes da vacinação. Posteriormente, para o irmão de um destes pacientes, foi orientado, antes do seu nascimento, que os pais não o vacinassem com a BCG até que investigação do sistema NADPH oxidase fosse concluída; e como o diagnóstico de DGC foi confirmado, evitou-se neste caso uma possível reação à BCG, que nestes pacientes pode levar ao óbito. Por se tratar de uma complicação extremamente grave, é recomendável que indivíduos com história familiar de infecções de repetição ou de imunodeficiência primária não recebam este imunobiológico antes que se averigüe a resposta imune celular e de fagócitos. Entre os estudos com grande número de casos de DGC não se faz referência à ocorrência ou não de reação adversa à BCG<sup>3,9,38</sup>. Contudo estes estudos foram realizados em países da Europa e América do Norte, onde a BCG não é utilizada de rotina.

## Conclusões

A presença de história familiar de infecção de repetição, reação adversa à vacina BCG, linfadenite e abscessos profundos, especialmente abscesso hepático, apresentaram associação ao grupo com diagnóstico bioquímico de DGC.

Infecção urinária esteve associada ao grupo sem diagnóstico definido, mas com suspeita clínica de defeito de fagócito.

## Referências

- Dinauer MC, Lekstrom-Himes JA, Dale DC. Inherited Neutrophil Disorders: Molecular Basis and New Therapies. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program) 2000;303-318
- Segal BH, Leto TL, Gallin JI. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. Medicine (Baltimore) 2000; 79: 170-200
- Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB, Jr. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. Medicine (Baltimore) 2000; 79:155-169
- Wientjes FB, Segal AW. NADPH oxidase and the respiratory burst. Semin Cell Biol 1995; 6:357-365
- Segal AW. The NADPH oxidase and chronic granulomatous disease. Mol Med Today 1996; 2:129-135
- Goldblatt D, Thrasher AJ. Chronic granulomatous disease. Clin Exp Immunol 2000; 122:1-9
- Kamani NR, Infante AJ. Chronic granulomatous disease and other disorders of neutrophil function. Clin Rev Allergy Immunol 2000; 19:141-156
- Heyworth P, Cross A, Curnutte J. Chronic granulomatous disease. Current Opinion in Immunology 2003
- Liese J, Kloos S, Jendrossek V. Long-term follow-up and outcome of 39 patients with chronic granulomatous disease. J Pediatr 2000; 137:687-693
- Forrest CB, Forehand JR, Axtell RA. Clinical features and current management of chronic granulomatous disease. Hematol Oncol Clin North Am 1988; 2:253-266
- Casanova JL, Blanche S, Emile JF. Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection: a French national retrospective study. Pediatrics 1996; 98:774-778

12. Grumach AS, Duarte AJ, Bellinati-Pires R. Brazilian report on primary immunodeficiencies in children: 166 cases studied over a follow-up time of 15 years. *J Clin Immunol* 1997; 17: 340-345
13. Speert DP, Bond M, Woodman RC. Infection with *Pseudomonas cepacia* in chronic granulomatous disease: role of nonoxidative killing by neutrophils in host defense. *J Infect Dis* 1994; 170:1524-1531
14. Theobald I, Fischbach R, Hulskamp G. [Pulmonary aspergillosis as initial manifestation of septic granulomatosis (chronic granulomatous disease, CGD) in a premature monozygotic female twin and FDG-PET diagnosis of spread of the disease]. *Radiologe* 2002; 42:42-45
15. Muller FM, Trusen A, Weig M. Clinical manifestations and diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised children. *Eur J Pediatr* 2002; 161:563-574
16. Mouy R, Ropert JC, Donadiou J. [Chronic septic granulomatosis revealed by neonatal pulmonary aspergillosis]. *Arch Pediatr* 1995; 2:861-864
17. John M. [The NBT test--a review]. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1980; 107:358-371
18. Segal BH, Holland SM. Primary phagocytic disorders of childhood. *Pediatr Clin North Am* 2000; 47:1311-1338
19. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol* 1999; 93:190-197
20. Ochs HD, Igo RP. The NBT slide test: a simple screening method for detecting chronic granulomatous disease and female carriers. *J Pediatr* 1973; 83:77-82
21. Patino PJ, Perez JE, Lopez JA. Molecular analysis of chronic granulomatous disease caused by defects in gp91-phox. *Hum Mutat* 1999; 13:29-37
22. English D, Andersen BR. Single-step separation of red blood cells. Granulocytes and mononuclear leukocytes on discontinuous density gradients of Ficoll-Hypaque. *J Immunol Methods* 1974; 5:249-252
23. McCord JM, Fridovich, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (hemocouprein). *J Biol Chem* 1969; 244:6049-6055
24. Condino-neto A, Muscara MN, Bellinati-Pires R. Effect of therapy with recombinant human interferon-gamma on the release of nitric oxide by neutrophils and mononuclear cells from patients with chronic granulomatous disease. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16:357-364
25. Condino-Neto A, Muscara MN, Grumach AS. Neutrophils and mononuclear cells from patients with chronic granulomatous disease release nitric oxide. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 35:485-490
26. Levin J. Testes Não-paramétricos. *Estatística Aplicada a Ciências Humanas*. São Paulo: editora Harbra, 1987; 193-265
27. Gallin JI, Buescher ES. Abnormal regulation of inflammatory skin responses in male patients with chronic granulomatous disease. *Inflammation* 1983; 7:227-232
28. Mouy R, Fischer A, Vilmer E. Incidence, severity, and prevention of infections in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1989; 114:555-560
29. Liese JG, Jendrossek V, Jansson A. Chronic granulomatous disease in adults. *Lancet* 1996; 347:220-223
30. Mulholland MW, Delaney JP, Foker JE. Gastrointestinal complications of congenital immunodeficiency states. The surgeon's role. *Ann Surg* 1983; 198:673-680
31. Maloney C. Estrogen & recurrent UTI in postmenopausal women. *Am J Nurs* 2002; 102:44-52
32. Hooton TM. Recurrent urinary tract infection in women. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17:259-268
33. Hextall A. Oestrogens and lower urinary tract function. *Maturitas* 2000; 36:83-92
34. Nuutinen M, Uhari M. Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. *Pediatr Nephrol* 2001; 16:69-72
35. Winięcka W, Zoch-Zwierz W, Wasilewska A. Evaluation of bladder instability in children with recurrent urinary tract infections. *Med Sci Monit* 2002; 8:CR19-23
36. Pasic S, Lilić D, Pejnović N. Disseminated *Bacillus Calmette-Guérin* infection in a girl with hyperimmunoglobulin E syndrome. *Acta Paediatr* 1998; 87:702-704
37. Jacob CM, Pastorino AC, Azevedo AM, et al. *Mycobacterium bovis* dissemination (BCG strain) among immunodeficient Brazilian infants. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1996; 6:202-206
38. Cale CM, Jones AM, Goldblatt D. Follow up of patients with chronic granulomatous disease diagnosed since 1990. *Clin Exp Immunol* 2000; 120:351-355

## Correspondência:

Antonio Condino-Neto  
Professor Associado - Livre Docente  
Departamento de Imunologia  
Instituto de Ciências Biomédicas - USP  
Av. Lineu Prestes 1730. São Paulo - SP  
CEP 05508-900. Brasil  
Tel 55 11 3091-7435 Fax 55 19 3289-8638  
E-mail: condino@icb.usp.br