



Protocolo de investigação de defeitos no *burst* oxidativo – método de redução do citocromo *c*

Responsável: Dr. Antonio Condino Neto

Pacientes com defeito no *burst* oxidativo apresentam infecções recorrentes por microorganismos catalase positivos e intracelulares. Podemos dividir as Imunodeficiências Primárias relacionadas com defeitos no *burst* oxidativo em dois grupos: àqueles com defeitos primários, apresentando alterações genéticas situadas em um dos genes do sistema NADPH oxidase (CYBB, CYBA, NCF1, NCF2, NCF4, entre outros) – Doença Granulomatosa Crônica; e àqueles com defeitos secundários, apresentando alterações genéticas em outros genes que afetam indiretamente a atividade NADPH oxidase, como NEMO, IRAK4, CD40L, IFNGR1 e IFNGR2 – Susceptibilidade Mendeliana a Micobacterioses ou Defeitos no Eixo IL-12/IFN- γ .

O diagnóstico está fundamentado principalmente nos seguintes critérios:

- História familiar para imunodeficiência caracterizada por infecções de repetição ou óbitos precoces nos tios e/ou primos;
- Quadro de infecções de repetição (otites, pneumonias, infecções cutâneas) por *Pseudomonas cepacia*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Serratia marcescens* ou infecções consideradas raras em crianças, como granulomas por *Staphylococcus aureus*;
- Presença de abscessos hepáticos e/ou pulmonares, linfadenite supurativa, enterite diarréica, osteomielite, ou septicemia;
- Outras manifestações: leucocitose durante as infecções e anemia em pacientes crônicos, e em frequência menor pode ocorrer hipergamaglobulinemia.

Assim como o método de DHR, este método avalia a produção das espécies reativas de oxigênio. No entanto, este método determina bioquimicamente, por redução do citocromo *c*, a concentração de ânion superóxido (em nmols / hora / milhão de células) produzido pelos fagócitos, sendo quantitativo e qualitativo. Este método é usado para confirmação de pacientes com defeito parcial ou nos quais o DHR não foi suficiente para concluir o diagnóstico.

Procedimentos

Etapa 1 – Identificação e encaminhamento do paciente

Enviar por e-mail o formulário de encaminhamento do paciente (Anexo) preenchido, com todos os resultados de exames realizados e quadro clínico do paciente.

Aguardar confirmação e agendamento por e-mail para envio das amostras de sangue.

Etapa 2 – Encaminhamento de amostras de sangue para exames laboratoriais

- Coletar do paciente e de um indivíduo controle (sem parentesco):
 - 15 mL de sangue em tubo com **heparina** para dosagem dos reativos de oxigênio através de teste bioquímico
- Serão aceitas amostras que forem entregues nos volumes e tubos solicitados.
- Identificar os tubos com caneta própria para escrita em tubos, que seja resistente à água.
- As amostras devem ser acondicionadas em temperatura ambiente.

Aguardar os resultados dessa etapa para envio de amostras de sangue para diagnóstico molecular.

Etapa 3 – Encaminhamento de amostras de sangue para diagnóstico molecular de DGC

- Coletar do paciente e de um indivíduo controle (sem parentesco):
 - 5 mL de sangue em tubo com **heparina** para extração de RNA
 - 5 mL de sangue em tubo com **EDTA** para extração de DNA
- Serão aceitas amostras que forem entregues nos volumes e tubos solicitados.
- Identificar os tubos com caneta própria para escrita em tubos, que seja resistente à água.
- As amostras devem ser acondicionadas em temperatura ambiente.

Mais informações, por favor, entrar em contato com Paulo Vítor Soeiro Pereira (pereirapvs@gmail.com; (11) 3091-7435; (11) 3091-7387)



Protocolo de investigação de defeitos no *burst* oxidativo – DHR

Responsável: Dr. Antonio Condino Neto

Pacientes com defeito no *burst* oxidativo apresentam infecções recorrentes por microorganismos catalase positivos e intracelulares. Podemos dividir as Imunodeficiências Primárias relacionadas com defeitos no *burst* oxidativo em dois grupos: àqueles com defeitos primários, apresentando alterações genéticas situadas em um dos genes do sistema NADPH oxidase (CYBB, CYBA, NCF1, NCF2, NCF4, entre outros) – Doença Granulomatosa Crônica; e àqueles com defeitos secundários, apresentando alterações genéticas em outros genes que afetam indiretamente a atividade NADPH oxidase, como NEMO, IRAK4, CD40L, IFNGR1 e IFNGR2 – Susceptibilidade Mendeliana a Micobacterioses ou Defeitos no Eixo IL-12/IFN- γ .

O diagnóstico está fundamentado principalmente nos seguintes critérios:

- História familiar para imunodeficiência caracterizada por infecções de repetição ou óbitos precoces nos tios e/ou primos;
- Quadro de infecções de repetição (otites, pneumonias, infecções cutâneas) por *Pseudomonas cepacia*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Serratia marcescens* ou infecções consideradas raras em crianças, como granulomas por *Staphylococcus aureus*;
- Presença de abscessos hepáticos e/ou pulmonares, linfadenite supurativa, enterite diarreica, osteomielite, ou septicemia;
- Outras manifestações: leucocitose durante as infecções e anemia em pacientes crônicos, e em frequência menor pode ocorrer hipergamaglobulinemia.

Este método baseia-se na avaliação da produção de peróxido de hidrogênio pelos fagócitos, usando citometria de fluxo. Por ele podemos definir a porcentagem da população celular produtora de reativos de oxigênio, sendo um método qualitativo não fornecendo informações sobre quantidade de reativos produzidos. No entanto, constitui um diagnóstico sensível e rápido, além de demandar de um volume menor de sangue do paciente para sua realização.

Procedimentos

Etapa 1 – Identificação e encaminhamento do paciente

Enviar por e-mail o formulário de encaminhamento do paciente (Anexo) preenchido, com todos os resultados de exames realizados e quadro clínico do paciente.

Aguardar confirmação e agendamento por e-mail para envio das amostras de sangue.

Etapa 2 – Encaminhamento de amostras de sangue para exames laboratoriais

- Coletar do paciente e de um indivíduo controle (sem parentesco):
 - 5 mL de sangue em tubo com **heparina** para dosagem dos reativos de oxigênio através de teste bioquímico
- Serão aceitas amostras que forem entregues nos volumes e tubos solicitados.
- Identificar os tubos com caneta própria para escrita em tubos, que seja resistente à água.
- As amostras devem ser acondicionadas em temperatura ambiente.

Aguardar os resultados dessa etapa para envio de amostras de sangue para diagnóstico molecular.

Etapa 3 – Encaminhamento de amostras de sangue para diagnóstico molecular de DGC

- Coletar do paciente e de um indivíduo controle (sem parentesco):
 - 5 mL de sangue em tubo com **heparina** para extração de RNA
 - 5 mL de sangue em tubo com **EDTA** para extração de DNA
- Serão aceitas amostras que forem entregues nos volumes e tubos solicitados.
- Identificar os tubos com caneta própria para escrita em tubos, que seja resistente à água.
- As amostras devem ser acondicionadas em temperatura ambiente.

Mais informações, por favor, entrar em contato com Paulo Vítor Soeiro Pereira (pereirapvs@gmail.com; (11) 3091-7435; (11) 3091-7387)

