Ana Karolina Barreto Berselli Marinho

**Avaliação da resposta clínica e humoral dos pacientes
portadores de ICV submetidos à vacinação com antígenos
protéicos e polissacarídicos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa: Alergia e Imunopatologia

Orientadora: Dra. Cristina Maria Kokron

São Paulo

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Marinho, Ana Karolina Barreto Berselli

Avaliação da resposta clínica e humoral dos pacientes portadores de ICV submetidos à vacinação com antígenos protéicos e polissacarídicos / Ana Karolina Barreto Berselli Marinho. -- São Paulo, 2012.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Alergia e Imunopatologia.

Orientadora: Cristina Maria Kokron.

Descritores: 1.Imunodeficiência de variável comum 2.Vírus da influenza A subtipo H1N1 3.Vacinas pneumocócicas 4.Vacinas 5.Infecção

USP/FM/DBD-423/12

Dedicatória

À minha amada Laura, que mesmo sem entender o significado da sua presença em minha vida, me deu forças para completar mais uma etapa de vida.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela oportunidade de concluir mais uma etapa em minha vida.

À querida Dr. Cristina Maria Kokron pela honra em ser a minha orientadora. Além de me guiar de maneira esplêndida pelo meio acadêmico se mostrou uma grande amiga compartilhando os seus ensinamentos e experiências de vida.

A toda a minha família, especialmente ao meu pai Cleber e à minha mãe Noelia que me deram a base e todo o incentivo para trilhar o meu caminho e a buscar os meus sonhos.

Ao meu irmão Tiago e à Marcela pelo apoio e carinho dedicados ao longo de todo o tempo.

Às minhas avós Clélia e Teresinha que me serviram de exemplo de luta e dedicação.

Ao meu amado Daniel pela paciência e pelo incentivo, por me dar de presente a nossa filha Laura e toda a sua família maravilhosa.

Ao Professor Dr. Jorge Kalil pela oportunidade da sua convivência e discussões enriquecedoras.

À Dr. Myrthes pelo acolhimento e aprendizado no ambulatório de Imunodeficiências Primárias.

Aos professores Edécio Cunha Neto e Ésper Kallas pelo acolhimento no laboratório e pela enorme contribuição nas reuniões científicas.

À querida Maíra por todo o apoio e pela convivência agradável que me fez ver o laboratório com outros olhos.

A todos os colegas da Pós-graduação por compartilhar as suas experiências e angústias fazendo com que o caminho se tornasse mais agradável.

A todos os colegas e funcionários do Laboratório (LIM 60) que me acolheram e me ajudaram no desenvolvimento do trabalho.

A todos os médicos, residentes e estagiários do Serviço de Alergia e Imunopatologia que me auxiliaram no atendimento aos pacientes, pelas discussões acadêmicas e pela oportunidade do convívio diário.

Aos funcionários Serafim, Rosana, Junior, Maurício e Leonir pelo grande auxílio em realizar as coletas, organizar a agenda e todos os processos envolvidos no relacionamento com os pacientes.

Às secretárias do Programa de Pós - Graduação em Alergia e Imunopatologia, Tânia e Andréia, por todo o auxílio nas questões burocráticas.

Aos pacientes, pois sem a sua participação, este trabalho não existiria.

A todos aqueles que contribuíram de alguma maneira para a realização desse trabalho.

Resumo

Marinho, A.K.B.B. **Avaliação da resposta clínica e humoral dos pacientes portadores de ICV submetidos à vacinação com antígenos protéicos e polissacarídicos.** 2012. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Estudos recentes têm apresentado resultados *in vitro* satisfatórios em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável (ICV) que receberam vacinas contra tétano, influenza e meningococo. No entanto, existem poucos ensaios clínicos que avaliem a resposta clínica e laboratorial após a exposição a antígenos específicos. O presente estudo tem como objetivo avaliar a resposta clínica à imunização contra antígenos protéicos e polissacarídicos (*influenza*, *H1N1* e *pneumococo*) em pacientes com diagnóstico de ICV seguidos no ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do HC-FMUSP. O diagnóstico dos pacientes foi estabelecido de acordo com os critérios da OMS / PAGID / ESID. Um grupo de 37 pacientes foi vacinado contra a influenza A (*H2N3*), gripe *H1N1* e pneumococo e outro grupo com 16 pacientes, não foi vacinado. A avaliação clínica foi realizada através da aplicação de um *score* com avaliação dos seguintes parâmetros clínicos: pneumonia, sinusite, otite média, infecções de vias aéreas superiores (IVAS), amigdalites, diarreia, bronquiectasias, hospitalizações, uso de antibióticos, uso de antibióticos profiláticos, sepse e meningite. O *score* foi aplicado durante os 12 meses que precederam a vacinação e 12 meses posteriores à administração das vacinas. O mesmo *score* foi aplicado ao grupo controle, com os pacientes que não foram vacinados. A determinação da IgG contra os sorotipos do pneumococo foi feita por ELISA. A determinação da IgG específica *H1N1* foi feita por hemaglutinação indireta, enquanto que a dosagem da IgG específica para influenza, por ELISA, utilizando o kit comercial RIDASCREEN® Influenza. O grupo de pacientes vacinados incluiu 37 pacientes (51% mulheres), com idade entre 20 e 78 anos (mediana= 33 anos). Observou-se uma mediana de 7 anos de atraso no diagnóstico de ICV. A mediana de idade

do grupo de pacientes (n=16, 37,5% mulheres) que não receberam a vacina foi de 41 anos e a mediana de atraso no diagnóstico foi de 8 anos. Observamos que as infecções de vias aéreas superiores (IVAS), sinusites e pneumonias foram as manifestações mais freqüentes no grupo controle. IVAS seguida por pneumonia e sinusite foram as manifestações infecciosas mais freqüentes em mulheres (80%, 78% e 55%, respectivamente). Entretanto, em homens observamos IVAS seguido por sinusite e pneumonia (78%, 65% e 35%, respectivamente). Observou-se redução significativa no *score* relativo ao número de infecções respiratórias superiores, sinusites e pneumonias um ano após a administração das vacinas ($p < 0,001$). Os dados foram comparados com pacientes ICV não vacinados e neste grupo não houve diferença entre os *scores* dos dois períodos de 12 meses. Após a vacinação, observou-se uma tendência a aumento no título de anticorpos específicos para a H2N3, mas sem resultado significativo. Em relação aos resultados obtidos com as sorologias para o H1N1 e o pneumococo, não se observou resposta após a vacinação. Concluindo, houve redução do *número* de infecções, principalmente das IVAS, sinusites e pneumonias em pacientes com ICV após a vacinação contra a influenza, H1N1 e pneumococo. Embora não tenhamos encontrado correlação entre a redução do número de infecções e os títulos de anticorpos específicos para as vacinas testadas, a melhora clínica observada nos pacientes com ICV reforça o benefício da vacinação.

Descritores: imunodeficiência de variável comum, vírus da influenza A subtipo H1N1, vacinas pneumocócicas, vacinas, infecção.

ABSTRACT

Marinho, A.K.B.B. **Clinical and laboratory evaluation of patients with common variable immunodeficiency before and after immunization with polysaccharide and protein antigens.** 2012. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Recent studies have shown satisfactory *in vitro* results in patients with CVID who received immunization against tetanus, influenza and meningococcus. However, there are only a few studies that evaluate the clinical and laboratory response after exposure to specific antigens in these patients. This study aims to evaluate the clinical response to immunization with protein and polysaccharide antigens (*influenza*, *H1N1* and *pneumococcus*) in CVID patients followed at the Primary Immunodeficiency outpatient clinic of the Division of Clinical Immunology and Allergy, Hospital das Clínicas, FMUSP. CVID patients were diagnosed according the WHO/PAGID/ ESID criteria. Thirty-seven patients were immunized against influenza (H2N3), H1N1 and pneumococcal polysaccharide vaccine while another group with 16 CVID patients were not vaccinated. Clinical evaluation was performed through a score with assessment of the following parameters: pneumonia, sinusitis, otitis media, upper respiratory infections (URI), tonsillitis, diarrhea, bronchiectasis, hospitalizations, use of antibiotic therapy, and use of prophylactic antibiotics, sepsis and meningitis. The score was applied during the 12 months prior to immunization and one year after the administration of vaccines. The same score was applied to the group of CVID patients who weren't immunized. Determination of IgG antibodies to pneumococcal serotypes was made by ELISA. H1N1-specific IgG was detected by indirect hemagglutination while the determination of influenza-specific IgG was performed by ELISA, using the RIDASCREEN® Influenza kit. The group of patients who were vaccinated included 37 patients (51% women), aged 20 to 78 years (mean 33 years). This group presented a median delay in the diagnosis of 7 years. The control group consisted of 16 patients (37.5% females) who were not immunized. Their median age was 41 years and the

median delay in the diagnosis was 8 years. URI followed by pneumonia and sinusitis were the most frequent infections in women (80%, 78% and 55% respectively). However in men, URI followed by sinusitis and pneumonia were the most frequent (78%, 65% and 35% respectively). We observed a significant reduction in the score of URI, sinusitis and pneumonias in the year post administration of the vaccines ($p < 0.001$). Conversely, there was no difference in the infections pre and post supposed vaccination scores in the group of CVID patients who were not immunized. There was no significant change in specific antibody titers to *influenza* and *pneumococcus* after vaccination. Regarding H1N1, there was no statistically significant production of antibodies to H1N1, although we observed a slight non-durable increase in antibody titers. In conclusion, there was a reduction in the number of infections, mainly sinusitis, URIs and pneumonias in patients with CVID vaccinated against influenza, H1N1 and pneumococcus. While we found no correlation between the reduction in the number of infections and specific antibody titers for the vaccines administered, the clinical improvement observed in CVID patients reinforces the benefit of vaccination.

Descriptors: Common variable immunodeficiency, Influenza A virus H1N1 subtype vaccines, infections, pneumococcal vaccines

Lista de Abreviaturas e siglas

APC	Fluorescência alofococianina.
BAFF	Fator de ativação de linfócitos B pertencente à família TNF.
Btk	Tirosina-quinase da família Src que age na maturação dos LB.
CCR7	Receptor de quimiocina tipo 7. Molécula expressa em linfócitos T e B ativados. Atua na maturação das células dendríticas e no controle da migração de linfócitos T de memória.
CD	<i>Cluster of differentiation</i> (designação de grupos)
CD138	Molécula expressa na superfície de plasmócitos.
CD19	Molécula expressa em linfócitos B e células dendríticas.
CD20	Molécula expressa nos LB. Atua na ativação e na regulação dos LB.
CD21	Receptor de C3d do sistema complemento, participante do complexo CD19/CD81.
CD22	Molécula expressa nos LB. Atua na regulação da ativação dos LB.
CD23	Molécula expressa nos LB ativados, monócitos e macrófagos. Atua na regulação da síntese de IgE e desencadeia a liberação da citocina IL-4 nos monócitos.
CD27	Molécula associada à memória celular. Atua liberando sinais co-estimulatórios para a ativação de LB e LT de memória.
CD38	Molécula expressa em LB e LT ativados.
CD40	Molécula co-estimulatória, associada à apresentação de antígenos.

CD40L Receptor de alta afinidade ligante da molécula CD40. É expressa em LT ativados e atua na ativação do linfócito T.

CD45 Proteína tirosina fosfatase expressa em células hematopoiéticas.

CD45RA Isoforma do CD45 típica de linfócitos T *naïve*.

CD45RO Isoforma do CD45 típica de linfócitos T de memória.

CFSE *5- (and 6-)-carboxyfluorescein diacetate succinimidyl Ester*

CMSP Células mononucleares de sangue periférico.

CXCR5 Receptor de quimiocina CXCR5.

DC Células dendríticas

EBV Vírus Epstein-Barr

ESID *European Society for Immunodeficiencies.*

FITC Fluorescência isocianato de fluoresceína.

FMO *Fluorescence minus one*, todas as fluorescências menos uma.

FSC-A *Forward Scatter Channel*, parâmetro de tamanho em granulosidade.

FSC-H *Forward Scatter Channel*, parâmetro de tamanho em altura.

HC-FMUSP Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina da USP.

ICOS Molécula co-estimulatória indutível expressa em linfócitos B.

ICV Imunodeficiência Comum Variável

IDP Imunodeficiência Primária

IFN- γ Interferon gama.

Ig Molécula de imunoglobulina (anticorpo), produzida pelos linfócitos B.

IgA Imunoglobulina A.

IgD Imunoglobulina D.

IgE Imunoglobulina E.

IgG Imunoglobulina G.

IgM Imunoglobulina M.

IL-2 Interleucina 2.

LB CD21^{low} Subtipo de Linfócito B com baixa expressão de CD21 que apresenta características similares às células B imaturas.

LB trans Linfócito B transicional.

LB Linfócito B.

Linfócito Th1 Linfócito T *helper* (auxiliares) tipo 1. Subpopulação de LT, que secreta principalmente IFN- γ , cuja principal função é estimular a defesa por microorganismos intracelulares.

LT CD4⁺ Linfócito T do tipo CD4⁺ ou T auxiliador.

LT CD8⁺ Linfócito T do tipo CD8⁺ ou T citotóxico.

LT Linfócito T.

mL Mililitro.

MZB *Marginal zone B cell* ou linfócitos B de zona marginal.

NK *Natural Killer cells* ou células citotóxicas naturais.

PAGID Pan American Group for Immunodeficiency.

PBL Plasmoblasto.

PE	Fluorescência ficoeritrina.
RPMI	Meio de cultura desenvolvido por Roswell Park Memorial Institute.
SCORE	Pontuação.
SMB	<i>Switched Memory B cell</i> ou linfócitos B de memória que sofreram troca de isotipo.
SSC	<i>Side scatter</i> , parâmetro de granulosidade.
TCR	<i>T cell receptor</i> ou receptor de células T.
TNF	Fator de necrose tumoral.
μL	Microlitro.

Lista de Figuras

Figura 1-	Gráfico de imunoglobulina G sérica antes do início do tratamento padrão e durante o período do estudo.....	34
Figura 2 -	Score de sintomas referentes às sinusites.....	35
Figura 3 -	Score de sintomas referente às IVAS.....	36
Figura 4 -	Score de sintomas referentes às pneumonias.....	37
Figura 5 -	Score de sintomas referentes às amigdalites	38
Figura 6 -	Score de sintomas referentes às otites.....	38
Figura 7-	Score de sintomas referente a uso de antibiótico terapêutico.....	39
Figura 8 -	Score de sintomas em mulheres.....	40
Figura 9 -	Score de sintomas em homens.....	40
Figura 10 -	Frequência de infecções em mulheres.....	41
Figura 11-	Frequência de infecções em homens	41
Figura 12 -	Gráfico comparativo entre o score de sintomas dos pacientes vacinados e dos pacientes não vacinados.....	53
Figura 13 -	Determinação de IgG específica para Influenza A subtipo H2N3.....	54
Figura 14 -	Determinação de IgG específica para Influenza A subtipo H1N1.....	44
Figura 15 -	Determinação de IgG específica para os sorotipos de pneumococo.....	56

Lista de tabelas

Tabela 1 -	Score de Sintomas.....	34
Tabela 2 -	Marcação da placa	44
Tabela 3 -	Características demográficas dos pacientes com ICV que participaram do estudo	49
Tabela 4 -	Características clínicas dos pacientes com ICV.....	51
Tabela 5 -	Correlação entre a redução do score de sintomas e a soroconversão dos pacientes com ICV vacinados para Influenza A e B.....	62
Tabela 6 -	Correlação entre a redução do score de sintomas e a soroconversão dos pacientes com ICV vacinados para H1N1..	63
Tabela 7 -	Sorologias para os polissacárides 1, 3, 5, 6B, 9, 14 e 18.....	64

SUMÁRIO

1	Introdução.....	18
1.1	Imunodeficiência Comum Variável	18
1.2	Alterações Imunológicas	20
1.3	Classificação	24
1.4	Tratamento.....	26
1.5	Imunização de pacientes com ICV	26
2	Objetivos.....	29
2.1	Objetivo Principal	30
2.2	Objetivos Secundários	30
3	Casuística e Métodos	31
3.1	Casuística	32
3.2	Métodos	33
3.2.1	Avaliação do número e gravidades das infecções.....	33
3.2.2	Vacinação e coleta das amostras de Sangue.....	35
3.2.3	Processamento do soro autólogo	36
3.2.4	Técnica de ELISA para determinação de IgG contra Influenza A e B (kit RIDASCREEN Influenza B e A IgG (K6421)	36
3.2.5	ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO PARA INFLUENZA H1N1	37
3.2.6	Técnica para determinação de anticorpos anti-pneumococos.....	41
3.2.7	Determinação da dosagem sérica de Imunoglobulinas	46
3.2.8	Análise Estatística	46
4	Resultados.....	48
4.1	Caracterização dos pacientes	49
4.2	Fenótipo dos pacientes com ICV	50
4.3	Dosagem de Imunoglobulinas.....	52
4.4	Análise das manifestações clínicas.....	52
4.5.	Resultados das sorologias	61
4.5.1	Determinação de IgG específica para Influenza A subtipo H2N3.....	61

4.5.2	Determinação de IgG específica para H1N1.....	62
4.5.3	Resultados das sorologias para o pneumococo.....	64
5	Discussão	66
6	Conclusão	76
7	Referências Bibliográficas	78
8	Anexos	96

1.Introdução

1 Introdução

1.1 Imunodeficiência Comum Variável

A Imunodeficiência Comum Variável (ICV) faz parte de um grupo de imunodeficiências primárias em que há defeito na produção e função das células B resultando em hipogamaglobulinemia, maior susceptibilidade a infecções bacterianas por bactérias encapsuladas (*Haemophilus Influenza*, *S. pneumoniae*) e ausência de resposta aos antígenos específicos (IUIS, 2011). Acomete um grupo heterogêneo de indivíduos em qualquer idade, porém há maior incidência nas faixas etárias de 6 a 10 anos e 18 a 35 anos de idade, em igual proporção em relação aos gêneros masculino e feminino. Os pacientes apresentam níveis reduzidos de imunoglobulina G (IgG) associados à redução de imunoglobulina A (IgA) e/ou imunoglobulina M (IgM) (Cunningham-Rundles e Bodian e col., 1999). Diversos estudos (Hong e col. 1990; Buckley e col., 1992; Iseki & Heineir, 1993; Conley e col., 1999), demonstraram que esta enfermidade é a segunda imunodeficiência primária mais freqüente e acomete 1 para cada 10.000 a 50.000 nascidos vivos, com prevalência de 2 para cada 100.000 habitantes na população adulta e 3 para cada 100.000 crianças na Suécia; 1 para cada 100.000 na Dinamarca e 0,5 para cada 1.000.000 no Japão (British Medical Research Council, 1971; Bjorkander e col., 1984). Por se tratar de doença rara, o diagnóstico, tratamento e acompanhamento destes pacientes acarretam custos elevados para o sistema de saúde e grande impacto socioeconômico (Miguel A Park e col., 2008).

A ICV poderia ser classificada como uma imunodeficiência combinada, pois em torno de 50% dos pacientes apresentam alterações da imunidade celular associada às disfunções da imunidade humoral. Atualmente, a ICV é classificada pela OMS em dois subgrupos principais: um com disfunção predominantemente humoral e outro com disfunção celular associada à disfunção na produção de anticorpos (Conley e col., 1999). O quadro clínico predominante é relativo à deficiência humoral, sendo que o aspecto mais marcante é a hipogamaglobulinemia, e conseqüentemente infecções por bactérias encapsuladas. Caso haja defeito celular associado, podem

ocorrer infecções por fungos, bactérias intracelulares e protozoários (Webster e col., 2001).

As manifestações clínicas predominantes da ICV são: infecções bacterianas recorrentes, principalmente do trato respiratório dentre as quais as sinusites, otites, amigdalites e pneumonias causadas principalmente por *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (Kokron e col., 2004). Diarréia crônica e intermitente é outro sintoma freqüente, decorrente de infecções por microorganismos como *Giardia lamblia*, *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*, podendo levar à síndrome de má-absorção. Alguns pacientes podem apresentar infecções oportunistas envolvendo microorganismos pouco comuns como: *Mycoplasma* e fungos (*Cryptococcus neoformans* e *Pneumocystis jiroveci*.) e infecções por protozoários, *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium* spp (Esolen e col., 1992; Macura e col., 2003). Infecções virais são comuns e herpes simples, *Epstein-Barr* e Citomegalovírus estão entre os mais freqüentemente reportados (Cunningham-Rundles & Bodian, 1999; Webster e col., 2001). Infecções recorrentes por herpes simples foram relatadas em pacientes com ICV (Rosen e col., 1997).

Os estudos mostram que aproximadamente 1/3 dos pacientes com ICV irão desenvolver algum fenômeno autoimune, incluindo anemia hemolítica, púrpura trombocitopênica, hepatite autoimune, tireoidite, diabetes, dermatomiosite e doença de Graves, entre outras (Cunningham-Rundles e col., 2002; Heeney e col., 2003; Resnick e col., 2012). As doenças autoimunes podem acometer os pacientes portadores de imunodeficiências e seus familiares, sugerindo o caráter hereditário da doença. Em função da alta prevalência de anticorpo contra IgA em pacientes com ICV e pela observação que mães com deficiência de IgA podem transmitir a doença através de anticorpos contra IgA, sugere-se que a ICV seja uma doença autoimune (Webster e col., 2001). Rizzo e col. reforçam a observação que entre 20% e 50% dos pacientes com ICV irão desenvolver algum fenômeno autoimune (AI), incluindo anemia hemolítica, púrpura trombocitopênica, vitiligo, hepatite autoimune, tireoidite, entre outras.

Os granulomas são observados em cerca de 10% dos pacientes com ICV, principalmente no sítio pulmonar, embora podemos encontrá-los no fígado, baço e pele.

Diversos estudos mostraram que os pacientes com ICV têm maior risco de desenvolver neoplasias hematológicas ou tumores sólidos (estômago, ovário, próstata, pele e cólon). A incidência de linfomas é elevada nestes pacientes principalmente os linfomas não Hodgkin. Processos malignos têm sua incidência aumentada, sendo que os pacientes com ICV têm risco 300 vezes maior de apresentar linfomas, podendo estar relacionados à infecção prévia pelo EBV e 50 vezes maior de apresentar câncer gástrico devido possivelmente à alta frequência de acloridria, presença de *H. pylori* na gastrite crônica e predisposição genética (Gompels e col., 2003).

1.2 Alterações Imunológicas

Embora pacientes com ICV geralmente possuam número normal de linfócitos B, uma parte pode apresentar linfopenia de linfócitos B (Farrant e col., 1989), enquanto outros possuem células B com fenótipo característico de células imaturas, com aumento do volume, uso restrito de famílias de gene VH e perda da capacidade de mutação dos genes da região variável da cadeia pesada de imunoglobulina (Braun e col., 1992). Apesar da presença de células B circulantes e em folículos linfóides, estas não são capazes de se diferenciar em células produtoras de anticorpos quando estimuladas com *pokeweed mitogen* (PWM) ou co-cultivadas com células T alogênicas (Kokron e col., 2004). Alguns pacientes apresentam células B incapazes de proliferar e/ou diferenciar-se em células secretoras de anticorpos, fenômeno associado a defeito da cascata de transdução de sinal intracelular via fosforilação de proteínas tirosinadas (Schwartz, 1999) ou por perda de ativação via proteína quinase C quando estimuladas com phorbol ester ou anti- μ (Kaneko e col., 1996).

Recentemente, Carsetti e colaboradores sugerem que as células B de memória $\text{IgM}^+\text{IgD}^+\text{CD27}^+$ são críticas na defesa contra bactérias encapsuladas, uma vez que pacientes com baixa contagem deste tipo celular apresentam um aumento na incidência de infecções por *Streptococcus pneumoniae*, resposta deficiente a imunização contra pneumococos e dano pulmonar progressivo (Carsetti e col., 2005). Uma classificação da ICV tem sido proposta de acordo com o número de

linfócitos B em sangue periférico, que podem ser divididos em duas subpopulações distintas: $CD19^+IgD^-CD27^+$, que produzem IgG, IgA e IgM (fenótipo de memória com switch de classe) e $CD19^+IgD^-CD27^-$ que produzem predominantemente IgM (fenótipo de memória sem switch de classe) (Warnatz e col., 2002).

Acredita-se que em alguns indivíduos o fenótipo possa estar associado ao repertório de células T, uma vez que a imunidade celular encontra-se alterada ou diminuída em alguns destes (Strauss e col., 1984). Inúmeros pacientes apresentam linfopenia relativa e absoluta de células T $CD4^+$, com número normal ou aumentado de células T $CD8^+$ o que leva à redução da relação $CD4^+/CD8^+$ (Vasconcelos e Duarte, 1989). Os mecanismos envolvidos não são claros, embora uma variedade de defeitos na expressão de moléculas de superfície, atividade enzimática intracelular, falha na expressão de ligantes de superfície após ativação *in vitro*, ou aumento espontâneo da apoptose tenham sido descritos. Existem relatos de persistente ativação dos linfócitos T, com aumento da expressão de HLA-DR e diminuição da expressão de L-selectina, ou o predomínio de células T $\gamma\delta$ em alguns pacientes (Webster e col., 2001). Dos pacientes estudados pelo nosso serviço (HC-FMUSP), 56% (40/71) apresentam inversão da relação $CD4/CD8$ ($<1,0$). Além disso, dos 34 pacientes submetidos aos testes cutâneos de hipersensibilidade tardia, 21 mostraram-se não responsivos (Kokron e col., 2004).

O defeito pode estar associado às células T reguladoras, deficiência de células T auxiliares e/ou presença de células T supressoras. A interação entre células apresentadoras de antígeno (APC) e linfócitos T é um processo específico que envolve a apresentação de antígenos associados a moléculas classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e seu reconhecimento pelo receptor de células T (TCR) (Rosen e col., 1999).

Células T ativadas expressam a molécula CD40L que interage com CD40, expresso na superfície das células B. A interação CD40L/CD40 é capaz de promover a ativação de células B, troca de isótipo de imunoglobulinas e surgimento de centros germinativos em órgãos linfóides secundários (Pinchuk e col., 1996). Em alguns pacientes foi observada menor expressão de mRNA para CD40L, e esse defeito esteve associado à deficiência na síntese de várias citocinas, enquanto que em outros houve diminuição seletiva da síntese de IL-2 (Farrington e col., 1994).

Uma vez que o desenvolvimento da resposta imune contra antígenos protéicos é dependente do processamento e apresentação de peptídeos aos linfócitos T, os peptídeos podem ser expressos tanto no contexto de moléculas classe I quanto de moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (Abbas e col., 2005). Esta necessidade de apresentação de antígenos pode constituir-se, em algumas situações, num possível empecilho para o desenvolvimento de uma resposta imune adequada. Entre as principais células apresentadoras de antígenos (APCs) estão os monócitos e as células dendríticas, que expressam em sua superfície moléculas de classe I e II do MHC, além de uma variedade de moléculas co-estimulatórias e de adesão. Elas têm sido motivo de estudo, pelo seu potencial de apresentação de peptídeos antigênicos, pela sua função na seleção positiva e negativa intratímica, sua relação com autoimunidade, e memória imunológica (Steinman e col., 1991; Knight & Stagg, 1993). Dentre as principais APCs temos as células dendríticas que exercem importante papel na indução da resposta imunológica e medeiam a resposta dos linfócitos T aos antígenos protéicos. As células dendríticas são reguladoras da resposta imune inata e adquirida (Stockwin e col., 2000).

Admite-se que as células dendríticas são derivadas de precursores da medula óssea sendo que a maioria delas está relacionada com os fagócitos mononucleares (Abbas e col., 2005). As células dendríticas imaturas estão localizadas nos epitélios da pele e dos sistemas gastrintestinais e respiratórios, que são porta de entrada para antígenos. Estas células são funcionalmente imaturas porque expressam baixos níveis de moléculas de superfície necessários para a estimulação eficaz dos linfócitos. Sua principal função é capturar e transportar os antígenos protéicos para drenagem nos linfonodos. Neste período, as células dendríticas amadurecem para se tornarem extremamente eficazes na apresentação dos antígenos e estimulação antigênica das células T *naive* (Abbas e col., 2005). Sabe-se que as células dendríticas apresentam antígenos induzindo a resposta imune primária, em órgãos onde elas processam e apresentam antígenos no contexto MHC às células T *naive* induzindo ativação e proliferação destas (Cunningham-Rundles e col., 2005; Martinez-Pomar e col., 2006). A imunidade inata, que inicia a resposta imune que culmina com a produção de anticorpos e proteção celular, depende do reconhecimento antigênico pelas APCs. Defeitos na imunidade inata assim como da

imunidade adaptativa podem em conjunto ser responsabilizados pela inabilidade de pacientes com ICV em erradicar patógenos através das vias imunes convencionais, resultando em risco aumentado de desenvolver infecções bacterianas recorrentes. Neste sentido, a avaliação da função das células dendríticas (DCs), demonstrou que pacientes com ICV podem apresentar diferenciação, maturação e função de DCs perturbada assim como níveis reduzidos de expressão de moléculas co-estimulatórias que são críticas para estimulação de linfócitos T.

Nos últimos anos, tem sido descritos genes relacionados à ICV: ICOS (coestimulador indutível de células T), membros do receptor da superfamília do TNF 13B (TNFRSF13B- TACI) e 13C (TNFRSF13C- BAFF) e CD19. Uma deleção parcial no gene de ICOS foi observada em pequeno número de pacientes com ICV. Esses pacientes apresentavam linfopenia de células B e hipogamaglobulinemia sem interferência da resposta linfoproliferativa de células T (PHA, PWM, mAb-anti-CD3, toxóide tetânico), síntese de citocinas por células T CD4⁺ (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13) ou incapacidade de troca de isótipo, uma vez que as células B na presença de células T CD4⁺ + IL-2 + SAC foram capazes de induzir a síntese de todos os isótipos de imunoglobulinas *in vitro* (Grimbacher B e col., 2003).

Um membro da superfamília do TNF designado BAFF (B cell-activating factor) expresso na superfície de macrófagos e células dendríticas, é capaz de se ligar a três receptores distintos, expressos na superfície das células B, denominados BAFFR (*BAFF receptor*, que codifica para *TNFRSF13C*), TACI (*transmembrane activator* que codifica para *TNFRSF13B*) e BCMA (*B cell maturation protein A* que codifica para *TNFRSF17*). Essa interação é importante para a sobrevivência e maturação de células B. TACI e seus dois ligantes, BAFFR e APRIL (*Proliferation inducing ligand*) são reguladores da sobrevivência e apoptose durante a ontogenia e desenvolvimento da resposta imune (Kuribayashi e col., 2008).

Durante a diferenciação de células B na medula óssea, a molécula CD19 aparece precocemente na superfície das células B até a sua diferenciação a plasmócitos. Quatro proteínas de superfície de células B maduras, CD19, CD21, CD81 e CD225 formam o complexo CD19, que em conjunto com o BCR (*B-cell antigen receptor*), são importantes no processo de ativação dos linfócitos B. Recentemente, foi descrita uma síndrome de deficiência de anticorpos em quatro

pacientes (a partir de duas famílias distintas) com mutação homozigota para *CD19*. Estes indivíduos apresentaram uma mutação do tipo “*frameshift*”, causando o surgimento de um códon prematuro de parada que resultou na deleção total do domínio citoplasmático (família 1) ou da maior parte do domínio citoplasmático da molécula *CD19* (família 2) e redução de células B $CD27^+IgD^+$ e $CD5^+$ (van Zelm e col., 2006).

A despeito do grande desconhecimento sobre as bases moleculares que regem a enfermidade, recentes descobertas (*ICOS*, *TACI* e *CD19*) apontaram os primeiros modelos monogenéticos associados ao fenótipo *ICV*. Em contrapartida, defeitos em *TACI* e *CD19* indicam defeitos genuínos de células B, ao passo que *ICOS* representa um exemplo de conectividade entre células T e B em centros germinativos (Warnatz e col., 2006).

Baseados nos defeitos genéticos alguns autores observaram que pacientes com deleção do *ICOS* ou do *TACI* têm o fenótipo clínico de infecções recorrentes, fenômenos autoimunes, esplenomegalia, linfadenopatia e neoplasias, e a resposta específica ao pneumococo está prejudicada. Em pacientes com defeito no *CD19* o que predomina são as infecções sinopulmonares recorrentes e do trato gastrointestinal e a resposta específica aos antígenos é desconhecida.

1.3 Classificação

Devido à heterogeneidade da imunodeficiência comum variável tem-se tentado definir grupos de acordo com as alterações da imunidade celular T e B e sua eventual correlação com manifestações clínicas.

Nos últimos cinco anos, as classificações de Paris e Freiburg têm sido utilizadas para definir a *ICV* a partir de técnicas de citometria de fluxo com base na presença ou ausência de células B de memória com troca de isotipo. Recentemente foi proposta uma nova classificação, *EUROclass*, baseada no fenótipo de subpopulações de linfócitos B do sangue periférico, que foi aplicada a uma coorte Européia multicêntrica com 303 pacientes. Esta classificação utilizou o seguinte

painel de anticorpos monoclonais: CD19, CD27, IgM e IgD, CD21 e CD38 (Wehr e col., 2008) e tentou correlacionar os dados clínicos encontrados. Foi observado um número muito reduzido de linfócitos B de memória em pacientes com ICV que apresentavam doença granulomatosa, esplenomegalia e citopenias autoimunes. O aumento do número de linfócitos B de transição e CD21^{low} foram associados à linfadenopatia e esplenomegalia, respectivamente. Ainda neste estudo, a redução da proporção de células B de memória *switched* foi associada à alta incidência de bronquiectasias, esplenomegalia e autoimunidade.

Além disso, sugere-se a avaliação de subpopulações células T *naïve* (CD45⁺RA⁺CCR7⁺), memória central (CD45⁺RA⁻CCR7⁺), memória efetora (CD45⁺RA⁻CCR7⁻) e células T reguladoras (CD25⁺CD127^{dim}) com a finalidade de identificar defeitos que sugiram doenças melhor definidas no grupo de imunodeficiências primárias. Uma parte dos linfócitos T ativados diferencia-se em células T de memória. São células presentes em tecidos linfóides, nas barreiras mucosas e na circulação. Quando estimuladas por antígenos se diferenciam em células efetoras e outras células T de memória. A célula T de memória central é responsável pela rápida expansão clonal quando exposta a um determinado antígeno, enquanto as células T de memória efetora são responsáveis pela rápida expansão clonal nas mucosas. Não sabemos quais os mecanismos que medeiam essas ações, mas a identificação fenotípica dos linfócitos T e a correlação com a resposta imune diante de diferentes antígenos poderiam auxiliar no melhor entendimento dos mecanismos das imunodeficiências primárias. (Abbas e col., 2007)

Giovannetti e colaboradores (2007) avaliaram parâmetros funcionais e fenotípicos da imunidade mediada por células T em pacientes com imunodeficiência comum variável. Eles demonstraram que a maioria dos pacientes apresentou múltiplas anormalidades relacionadas a níveis diminuídos de linfócitos T CD4⁺ com enfoque no maior *turnover* e apoptose. Os níveis de linfócitos T CD4⁺ foram comparados à classificação baseada nas células B de memória, sendo que os autores observaram correlação com os níveis de linfócitos T CD4⁺ *naïve*. Ao comparar com o EUROclass, os autores observaram correlação em 58,8%.

Mouillot e colaboradores (2010) avaliaram o fenótipo de células T e B em pacientes com ICV e observaram associações entre algumas complicações destes pacientes com os fenótipos distintos de células B e T. Em pacientes que apresentavam apenas infecções de repetição, a principal anormalidade de células B e T foi o defeito no *switch* de memória de células B e redução das células T *naïve* associado ao aumento em células CD95⁺CD4⁺

1.4 Tratamento

O objetivo do tratamento da ICV é reduzir a morbimortalidade e o número de infecções. O tratamento baseia-se na reposição de imunoglobulina humana intravenosa (IVIg) com intervalos de 3 a 4 semanas, na dose de 400 a 600mg/Kg/peso ou imunoglobulina subcutânea (SCIg) na dose de 100mg/kg/semana 2 a 3 vezes por semana. Por se tratar de doença rara, o diagnóstico muitas vezes é dado em estágios avançados em que complicações já fazem parte do quadro clínico. As bronquiectasias são as complicações encontradas freqüentemente devido às infecções pulmonares recorrentes. No tratamento adjuvante devem-se considerar antibioticoterapia profilática, acompanhamentos fisioterápico, nutricional e psicológico do paciente (Kindergeneeskunde e col., 1988; Muscaritoli e col., 2001).

1.5 Imunização de pacientes com ICV

A segurança e eficácia das vacinas em indivíduos com deficiências imunológicas são determinadas pela natureza e grau de imunossupressão. A experiência com administração de vacinas nos imunocomprometidos é limitada. Entretanto, dados a partir de crianças infectadas pelo HIV demonstram o baixo risco de eventos adversos nestes pacientes após imunização. De um modo geral, as vacinas com patógenos vivos devem ser evitadas em pacientes gravemente imunocomprometidos. Vacinas com patógenos inativados (DTaP – difteria, tétano e pertussis acelular, hepatite B, poliovírus inativado, *Haemofilus* tipo b, pneumococos e influenza) podem ser administrados, porém a resposta imunológica destes

pacientes a estas vacinas é variável e pode ser ineficiente ou ausente. Em parâmetros práticos para diagnóstico e tratamento de imunodeficiências primárias, publicado em 2005, Bonilla e colaboradores nas considerações gerais enfatizam que vacinas de patógenos vivos não devem ser administradas a pacientes com imunidade específica gravemente comprometida. A mesma publicação sugere que as vacinas com patógenos inativados ou subunidades podem ser administradas aos pacientes imunocomprometidos.

A grande discussão com relação à indicação de vacinação com patógenos inativados de pacientes com imunodeficiência comum variável está na capacidade destes pacientes em responder a antígenos específicos e, portanto, na eficácia da vacinação e não os riscos que poderiam decorrer da vacinação. Porém, estudos recentes demonstraram resultados satisfatórios *in vitro* em pacientes com ICV que receberam vacinas contra o tétano, *H. influenzae*, hepatites A e B e *pneumococcus*. Devido à heterogeneidade da etiologia e mecanismos imunológicos da doença, alguns pacientes teriam a capacidade de resposta a tais antígenos. Sousa F e col. (2007) avaliaram a resposta linfoproliferativa de pacientes com ICV antes e após vacinação anti-tetânica. Observaram que apenas 14% dos pacientes testados não responderam à estimulação com toxóide tetânico após a vacinação e 66% tiveram resposta excelente, com índice de estimulação acima de 10. A capacidade de resposta aos antígenos específicos pode estar relacionada à classificação desses pacientes de acordo com dados clínicos e laboratoriais incluindo função e produção de anticorpos e defeitos genéticos (ICOS, TACI, CD19 e BAFF). Esta classificação poderá servir para definir subgrupos mais homogêneos a partir de análises genéticas e funcionais (Wehr e col., 2008). São raros os estudos para classificar e avaliar adequadamente a resposta clínica e laboratorial após exposição a antígenos específicos desses pacientes (Goldacker e col., 2007).

Até o ano de 2007, haviam poucos estudos relacionados a imunizações em imunodeficiências primárias. Junker e col. em 2005 sugeriram em uma carta editorial que pacientes com ICV não responderiam a vacina contra influenza, haja vista a pobre resposta antígeno específica característica da doença. Porém, Miguel A Park e col. 2008 recomendam a administração da vacina contra a influenza em pacientes com ICV que fazem reposição mensal de gamaglobulina humana, justificando que

seja improvável a presença de anticorpos contra este vírus no preparado de imunoglobulina humana.

O foco da vacinação tem sido a produção de anticorpos, mas também geração de resposta T potente e duradoura e fundamental (Seder e col., 2008). A caracterização destas respostas, por exemplo, Th1 *versus* Th2, memória central *versus* memória efetora podem se tornar importantes na compreensão da variedade das respostas. Observando dados recentes da literatura há uma grande necessidade de classificar e diagnosticar com maior precisão defeitos da função e produção de linfócitos T e B que levam a redução na produção de anticorpos e suas consequências. A administração de vacinas nestes pacientes é útil no diagnóstico e possivelmente útil na prevenção de doenças, em vista dos mecanismos imunológicos da ICV.

A caracterização laboratorial dos pacientes com ICV tem sido imperativa para o melhor acompanhamento clínico destes pacientes. A avaliação da capacidade de resposta a vacinas diversas e a influência da vacinação na evolução clínica, principalmente com relação ao número de infecções, pode comprovar a utilidade deste procedimento neste grupo de pacientes. Além disso, o melhor conhecimento das características imunológicas da ICV pode determinar o aparecimento de novas suspeitas etiológicas, que por final podem levar a um diagnóstico mais preciso e talvez um tratamento específico mais eficiente.

2.Objetivos

2 Objetivos

2.1 Objetivo Principal

- Avaliar a resposta clínica e laboratorial de pacientes com Imunodeficiência Comum Variável, acompanhados no ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do HC-FMUSP após a vacinação com antígenos protéicos e polissacarídicos.

2.2 Objetivos Secundários

- Correlacionar os achados laboratoriais com o fenótipo clínico dos pacientes (infecções sinopulmonares, bronquiectasias, linfadenopatias, esplenomegalia, alterações gastrintestinais, fenômenos autoimunes e neoplasias).
- Avaliar o efeito da vacinação específica sobre o número de infecções.

3.Casuística e Métodos

3 Casuística e Métodos

3.1 Casuística

Foram selecionados 53 pacientes com diagnóstico de ICV acompanhados no ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do HC-FMUSP. Os critérios diagnósticos utilizados estão de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1997), Grupo Panamericano de Imunodeficiências (PAGID) e Sociedade de Européia de Imunodeficiências (ESID) (Coley e col.,1999). Foram colhidas amostras de sangue dos pacientes pré e pós-administração das vacinas contra Influenza, H1N1 e pneumococo

Critérios de exclusão:

- Gestantes
- Doenças malignas em tratamento
- Imunossupressão grave que contraindicasse a administração das vacinas
- Menores de 18 anos

Os procedimentos para coleta das amostras seguiram as normas do Comitê de Ética do HC-FMUSP (projeto # 460/06). Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (**anexo 1**).

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação do número e gravidades das infecções

Para avaliação do número de infecções, os indivíduos foram interrogados sobre o início, frequência anual de infecções e uso de antibioticoterapia. Revisão do prontuário médico também foi realizada. Como critérios de avaliação para infecções recorrentes, foram utilizados parâmetros descritos na literatura (Conley & Stiehm, 1996; Pichichero e col., 2000).

Os pacientes foram avaliados quanto ao número e gravidade de infecções e fatores associados a partir de um *score* de sintomas já validado na literatura e modificado de acordo com as necessidades do presente estudo (Yarmohammadi H. e colaboradores, 2008). O *score* foi aplicado em três períodos que serão descritos no texto que se segue. O tratamento padrão consiste em administração de imunoglobulina intravenosa mensalmente (IVIg).

Os parâmetros avaliados foram: pneumonias, sinusites, otite média aguda, infecções de vias aéreas superiores (IVAS), amigdalite, diarreia, bronquiectasias, hospitalizações, uso de antibiótico terapêutico, uso de antibiótico profilático, sepse e meningite (**tabela 1**). Consideramos pelos critérios da OMS e consensos das sociedades brasileiras de pneumologia e otorrinolaringologia, os seguintes conceitos:

Amigdalite: inflamação das tonsilas que pode ser de etiologia viral ou bacteriana principalmente.

Pneumonia: constitui uma condição clínica caracterizada pela infecção do trato respiratório inferior, porções distais do pulmão. Etiologicamente estão envolvidas categorias diversas de agentes: vírus, bactérias, fungos e parasitas.

Sinusite: Inflamação dos seios paranasais da face devida infecção por agentes virais, bacterianos ou fúngicos.

IVAS: Infecções do trato respiratório superior desencadeadas por vírus

Sepse: Consiste em síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS- temperatura acima de 38°C ou abaixo de 36°C, taquicardia com frequência cardíaca acima de 90bpm, taquipnéia com frequência respiratória acima de 20ipm ou hiperventilação com PaCO₂ abaixo de 32mmHg, leucocitose acima de 12.000/mm³, leucopenia abaixo de 4000/mm³ ou mais de 10% de formas jovens de neutrófilos) associada a um foco infeccioso presumido ou evidente.

Meningite: inflamação das membranas que revestem o encéfalo e a medula espinhal, conhecidas coletivamente como meninges. A inflamação pode ser causada por infecções por vírus, bactérias ou outros micro-organismos.

Diarréia: consiste no aumento do número de evacuações (fezes não necessariamente líquidas) e/ou a presença de fezes amolecidas ou até líquidas nas evacuações.

Bronquiectasias: considera-se o aumento irreversível do diâmetro da árvore brônquica que pode ser consequência de infecções pulmonares de repetição

Tabela 1: Score de Sintomas

	0	1	2	3	4	5
Amigdalite	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
Sinusite	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
OMA	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
Pneumonias	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
IVAS	nenhum	1	2	3		> 3
Sepse, meningite	não					presente
Diarréia crônica	não					presente
ATB	não	1	2	3	4	5 ou mais
ATB profilático	não					Sim
Internações	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
Bronquiectasias	não					Sim

Tabela 1: Score de avaliação clínica. Modificado Yarmohammadi H e col., 2008. Amigdalite, sinusite, OMA: otite média aguda, BCP: pneumonia, IVAS: infecções de vias aéreas superiores, seps, meningite, diarréia, ATB: antibiótico terapêutico, ATB profilático: antibiótico profilático, Internações, BQ: bronquiectasias.

O *score* de sintomas foi aplicado em três situações:

a) *Score* de sintomas antes da instituição do tratamento padrão (reposição de imunoglobulina). Esses dados foram analisados retrospectivamente por entrevista ao paciente e revisão do prontuário. Foi feita uma média do número de infecções no período de 1 ano que antecedeu o início do tratamento.

b) *Score* de sintomas após o início da reposição de imunoglobulina humana, mas durante os 12 meses que precederam a administração das vacinas.

c) *Score* de sintomas durante os 12 meses que sucederam a administração das vacinas.

Para cada item do *score* foi dada uma pontuação. Cada paciente teve um *score* pré-imunoglobulina, pós-imunoglobulina e pós vacina (**anexo 2**).

3.2.2 Vacinação e coleta das amostras de Sangue

Após a coleta da primeira amostra de sangue, efetuada no dia em que seria administrada a imunoglobulina humana intravenosa, 37 pacientes foram orientados a procurar em quinze dias o Centro de Imunizações do Hospital das Clínicas de São Paulo, para administração das vacinas anti-pneumocócica, contra H1N1 e anti-influenza por via intramuscular, simultaneamente. Os lotes das vacinas utilizadas foram: Influenza - Lote: VA349400; H1N1 - Lotes: A80CA184-A; 107.058P1 e S. Pneumoniae - Lotes: TO234.1; NR 5600; NN 14220; NL 15710; P1418.50; YO 237.1.

A segunda coleta de sangue foi realizada seis semanas após a vacinação, imediatamente antes da administração de imunoglobulina intravenosa. As outras amostras foram colhidas no período de 3 e 6 meses após a administração das vacinas.

Foram colhidos 40ml de sangue periférico de cada paciente portador de ICV, sendo 10ml em tubo seco (sem aditivos) e 30ml em tubo heparinizado. Para este trabalho apenas a amostra do tubo seco foi necessária.

3.2.3 Processamento do soro autólogo

O sangue coletado em tubo seco foi mantido em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos para a retração do coágulo sanguíneo. O tubo foi então centrifugado para a separação do soro das hemácias, durante 10 minutos a 2000 g. O soro foi aspirado e colocado em um novo tubo, deixado em banho-maria a 56°C por 30 minutos, para inativação do sistema complemento.

3.2.4 Técnica de ELISA para determinação de IgG contra Influenza A e B (kit RIDASCREEN Influenza B e A IgG (K6421))

1. A placa microtítulo (Plate) e os reagentes foram colocados à temperatura ambiente.
2. O buffer de lavagem (SeroWP) foi diluído na diluição 1:10 com água destilada.
3. A amostra do soro foi diluída na diluição de 1:100 com o buffer de amostra (SeroPP).
4. A placa foi identificada com poços: vazio, controle padrão, controle negativo e amostras (todos em duplicatas).
5. A posição identificada como A1 ficou vazia na primeira incubação. Foram pipetados 100µl do controle padrão (controle IgG +), 100µl no controle negativo (controle IgG -) e 100µl da amostra e colocados nos poços da placa.
6. A placa foi coberta e incubada a 37°C por 30 minutos.
7. O sobrenadante foi desprezado e a placa foi lavada quatro vezes com 300µL buffer de lavagem diluído.
8. Adicionou-se 100µl de anticorpos conjugado (SeroG HD) em todos os poços inclusive no vazio (A1).
9. A placa foi coberta e foi encubada a temperatura de 37°C por 30 minutos.

10. O sobrenadante foi desprezado e placa foi lavada quatro vezes com 300µL buffer de lavagem diluído.

11. Adicionou-se 100µL de substrato (SeroSC) em todos os poços.

12. A placa foi coberta e foi encubada a temperatura de 37°C por 30 minutos.

13. Adicionou-se 100µL de reagente bloqueador (SeroStop).

14. Foi realizada a leitura fotométrica a 450/620 nm.

A avaliação do teste em U/ml foi feita através da tabela de conversão padrão anexo ao manual do fabricante do kit:

Negativo: < 5,0 U/ml

Limítrofe: 5,0-8,0 U/ml

Positivo: > 8,0 U/ml

3.2.5 ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO PARA INFLUENZA H1N1

Preparo dos Reagentes – 1 °Dia

RDE – enzima comercial liofilizada que contém marcadores inespecíficos (vibrião da cólera). Lote: 299061 Denka Seinken

Preparo do soro:

- 1) O RDE foi diluído em 20 ml de solução fisiológica
- 2) Foram diluídos 50 µL de soro puro + 150 µL de RDE (diluição ¼) – em tubos de plástico com tampa
- 3) Incubado em banho-maria a 37°C por 22 horas.

OBS: No dia anterior ao experimento, foi coletado o sangue de uma galinha e mantido em geladeira até a sua utilização.

Preparo dos reagentes – 2º Dia

Preparo do soro:

- 4) Colocadas as amostras em banho-maria a 56°C por 10 minutos para inativação do RDE.
- 5) Em seguida, adiciono-se no mesmo tubo 300 µL de solução fisiológica.

Preparo do Antígeno:

Antígeno: Influenza H1N1 Lote 58702795 (FR 187 IRR)

Soro controle positivo: Influenza H1N1 – controle do antígeno

- 1) Pipetou-se 1 mL do antígeno e foi completou-se com 9 mL de PBS (1/10).

Observação 1: o H1N1 tem a hemaglutinina que se liga especificamente na membrana da hemácia da galinha, fazendo com que ocorra lise celular no caso de não haver anticorpos específicos no soro para neutralizar a reação.

Observação 2: o antígeno deve sempre ser mantido no gelo e quando for utilizá-lo, sempre homogeneizar muito bem

Preparo das Hemácias:

- 1-As hemácias foram lavadas com PBS por 5 minutos a 1200 rpm
- 2-As hemácias foram lavadas com PBS por 10 minutos a 1500 rpm
- 3-Utilizadas as hemácias a 0,5 e diluídas a 1/10 com PBS e novamente a 1/20.

Reação

1) As placas de 96 poços forma preparadas para as seguintes diluições:

- Placa das amostras de soro

1- Foram pipetados 25 μ L de PBS em cada poço, exceto na 1^o fileira de cada placa, pois nesta foi colocada 25 μ L de soro preparado (soro+RDE).

2 – Foram pipetar na segunda fileira da placa 25 μ L de soro das amostras.

3 - Em seguida, foi realizada uma diluição seriada da segunda fileira em diante e, no último poço foi desprezado 25 μ L desta solução.

- Placa de controle do soro

1-Na primeira fileira foi pipetado 25 μ L de PBS e mais 25 μ L de soro de cada amostra a ser testada.

2-Na mesma fileira foi pipetado 50 μ L de hemácias.

Nesta mesma placa montou-se uma fileira para o controle do antígeno e outra para o controle positivo da reação:

- Controle do antígeno:

1 – Foram pipetados no 1^o poço 100 μ L do antígeno

2 – Foram pipetados no 2^o poço 50 μ L de PBS + 50 μ L de antígeno transferido do 1^o poço;

3 – Foram pipetados no 3^o poço 50 μ L de PBS + 50 μ L da solução do poço anterior, assim sucessivamente (diluição seriada)

- Controle positivo da reação:

1. Foram pipetados no 1^o poço 25 μ L do soro positivo (que vem junto com o antígeno) + 25 μ L de antígeno

2. Foram pipetados no 2º poço 25 µL de PBS + 25 µL de soro positivo, assim sucessivamente (diluição seriada).

3. Por último adicionou-se 25 µL de antígeno nos poços

2) Adicionou-se na placa das amostras, no controle do antígeno e no controle positivo da reação, 25 µL de antígeno (diluído em PBS 1/10) em todos os poços inclusive na 1ª fileira. Esta placa ficou incubada por 15 minutos em temperatura ambiente.

Em seguida, adicionou-se em todos os poços (das duas placas) 50 µL das hemácias (diluída 1/20). Ficou incubada por 30 minutos a temperatura ambiente.

Análise

1) Primeiro observou-se a formação de botão (indicativo de presença de anticorpos específicos) ou da malha (ausência de anticorpos específicos, indicando que o antígeno se ligou na hemácia e causou a lise celular)

2) Inclinando a placa a 45° , verificou-se se o botão descendo como uma gota na parede do poço.

OBS 1: A partir das diluições de 1/40 foi considerada soroconversão caracterizando títulos de anticorpos protetores.

3.2.6 Técnica para determinação de anticorpos anti-pneumococos

MATERIAIS

Placas de ELISA Maxisorp (Nunc-439454 ou 442404)

Lavadora automática de placas de 96 poços

Espectrofotômetro para ELISA

Pipeta multicanal

Tubos de ensaio de vidro

TAMPÃO BSA-PBS T

Tampão BSA 1% em PBS – Tween 20 0,1%

1. Os polissacarídeos 1, 5, 6B, 9, 14 e 18 (concentração inicial de 10 mg/ml – ressuspender com 1 ml de água destilada, homogeneizar e fazer alíquotas de 50 µL e guardar em -70°C) foram diluídos a uma concentração de 10 µg/ml em tampão PBS pH 7,4. Sorotipos acima 1:1000

O polissacarídeo 3 (concentração inicial de 5 mg/ml) foi diluído a uma concentração de 10 µg/ml em tampão PBS pH 7,4. Sorotipo 3 diluição 1:500.

2. Em tubos de ensaio, adicionou-se 11 µL do sorotipo em 11 ml de tampão BSA-PBS. Coberto com filme plástico e homogeneizado por inversão.

3. Colocou-se 100 µL/poço das diluições nas placas de ELISA

4. As placas foram incubadas a 37°C por 5 horas e após este período ficou incubada a 4°C até o dia seguinte.

NO DIA SEGUINTE:

Foram numerados:

9 tubos para amostras

1 tubo Pool Pneumo

1 tubo Pool Controle

1 tubo Poly C

1 tubo Tampão

1. As amostras foram diluídas (1/11) primeiramente em tampão BSA 1% em PBS-Tween 20 0,1% contendo o polissacarídeo C (50 µg/ml) e o polissacarídeo 22F (40 µg/ml).

2. As curvas padrão e controle foram diluídas em tampão BSA-PBS T contendo o polissacarídeo C.

3. Diluição das amostras: “A”

- Em um volume de 3,0 ml de tampão (suficiente para diluição de 9 amostras) acrescentou-se 15 µL de Poly C e 12 µL de PS 22F.

4. Diluição da curva padrão (Pool Pneumo) e controle (Pool H): “B”

- Em um volume de 800 µL de tampão acrescentou-se 4 µL de Poly C

5. Diluição inicial 1:11

- Curva e controle: 30 µL de soro + 300 µL de tampão só com Poly C “B”

- Amostras: 30 µL de soro + 300 µL de tampão com Poly C e PS 22F (CWPS) “A”

6. Permaneceu por 1 hora a temperatura ambiente.

7. Após 1 hora procedeu-se às diluições finais:

- Curva padrão (Pool Pneumo): 1/220

- Controle (Pool H): 1/220

- Amostras (pré e pós-vacinação): 1/55

Observação: Com exceção do sorotipo 3 que a curva foi diluída a 1:110 (diluir 1:10 = 50 µL + 450 µL – final 1:110).

Padrão = “Pool Pneumo” – Pool de soro de adultos vacinados

#Controle = “Pool H” – Pool de soro de adultos não vacinados

8. Em dois tubos de ensaios acrescentou-se 1,35 ml de tampão BSA-PBS T (controle e padrão)

9. Acrescentou-se 1,35 ml de tampão BSA-PBS T diretamente nos tubos das amostras

10. Foram colocados 70 µL do Pool Controle no tubo com 1,35 ml de tampão

11. Foram colocados 70 µL do Pool Pneumo no tubo com 1,35 de tampão

12. As placas de Elisa foram lavadas por 3 vezes

TAMPÃO DE LAVAGEM: 50 ml de Tampão PBS 20 x [] pH 7.4 + 1 ml de Tween (quantidade para 1 litro de água destilada)

13. As placas foram marcadas.

Tabela 2. Marcação da placa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	#	P	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
B	P	N	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
C	O	E	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
D	O	U	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
E	L	M	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	P	C
F	#	O	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	O	T
G	#	#	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	O	R
H	B	B	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	Ω	L	L

B - BRANCO

Ω - AMOSTRAS PÓS-VACINAÇÃO

§ - AMOSTRAS PRÉ-VACINAÇÃO

14. Nos poços iniciais, colocou-se 100 µL de amostra. Nos demais, 50µL de tampão. Com a pipeta multicanal, foi retirado 50 µL do poço inicial e passado para o poço seguinte. Foi homogeneizado e passado novamente 50 µL para o poço seguinte e assim sucessivamente (diluição seriada). Desprezou-se os últimos 50 µL.

A curva padrão (Pool Pneumo) tinha 7 diluições a partir de 1/220, e as demais amostras testadas tinham 4 diluições a partir de 1/55.

15. As placas forma cobertas com papel filme e incubadas por 2 horas a temperatura ambiente.

16. As placas foram lavadas por 3 vezes.

17. Em um béquer, adicionou-se 32 ml de tampão BSA-PBS T e 8 µL do conjugado anti-IgG monoclonal humana marcado com peroxidase. Acrescentou-se 50 µL por poço.

18. As placas foram incubadas por 2 horas a temperatura ambiente.

19. As placas forma lavada novamente por 3 vezes.

20. Foram adicionados 100 µL por poço do substrato da enzima: (q.s.p. 6 placas)

Três pastilhas de OPD 10 mg dissolvidas em 75 ml de tampão citrato-fosfato 0,1M pH 5,0 e, depois de dissolvidas acrescentou-se 30 µL de peróxido de hidrogênio 30% (H₂O₂)

21. A placa foi incubada por 30 minutos a temperatura ambiente no escuro.

22. A reação foi bloqueada com ácido sulfúrico 2,5N (50 µL por poço).

23. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 492 nm.

RESULTADO

- resposta acima de 50 µg/ml colocar > 50

- resultado baixo menor que o último ponto da curva colocar:

SOROTIPO	µg/ml	SOROTIPO	µg/ml
1	0,04	9V	0,06
3	0,07	14	0,10
4	0,04	18	0,05
5	0,05	19F	0,08
6B	0,08	23F	0,08

- resposta Pós-vacinal:

1. A resposta foi considerada positiva acima de 1,3 – 1,35
2. A caracterização de resposta vacinal ao pneumococo: 4 ou mais sorotipos acima de 1,3.

3.2.7 Determinação da dosagem sérica de Imunoglobulinas

O nível sérico de imunoglobulinas G, A e M nos pacientes com ICV foi mensurado antes de cada administração da IVIG, pelo método de nefelometria de acordo com instruções do fabricante, no Laboratório Central do HC-FMUSP.

3.2.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa *GraphPad Prism 5.0*.

Para comparação da frequência entre pacientes foi realizado o teste *Kruskal-Wallis*. Havendo diferença estatística entre os grupos foi utilizado o teste *Dunn's Multiple Comparison Test*.

Para a análise das características clínicas foi realizado teste *2WAY ANOVA* e para a identificação dos grupos que apresentaram diferença estatística, foi realizado o teste de *Bonferroni*. Foram considerados valores estatísticos significativos de $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$.

Para a análise de comparação dos títulos de anticorpo específico e o de sintomas foi utilizado o teste estatístico qui-quadrado.

4.Resultados

4 Resultados

4.1 Caracterização dos pacientes

Em relação aos dados demográficos, 53 pacientes foram selecionados para o estudo: 37 no grupo de vacinação e 16 pacientes com ICV que não foram vacinados. Dos 37 pacientes estudados, 19 foram indivíduos do gênero feminino e 18 do gênero masculino. A mediana de idade foi de 33 anos (20 a 78 anos), não havendo diferença entre homens e mulheres. A mediana da idade de início dos sintomas foi 15 anos (1 a 58 anos), e a mediana da idade ao diagnóstico foi 26 anos (8 a 66 anos). Portanto, a mediana de retardo no diagnóstico foi de sete anos para o grupo de pacientes vacinados, sendo que em mulheres foi superior aos homens. Na **tabela 3** podemos ver os dados dos pacientes com ICV vacinados e o grupo controle de pacientes com ICV não vacinados. O Grupo controle apresentou mediana de idade de 41 anos (23 a 66 anos). A mediana de idade do início dos sintomas foi de 14 anos e a mediana de idade do diagnóstico foi de 25 anos. O retardo no diagnóstico do grupo controle foi de 8 anos.

Tabela 3: Características demográficas dos pacientes com ICV que participaram do estudo

	ICV vacinados (n=45)	ICV não vacinados (n=16)
Idade atual (anos)*	33 (20-78)	41 (23-66)
Idade do início sintomas (anos)*	15 (1-58)	14 (5-45)
Idade do diagnóstico (anos)*	26 (8-66)	25 (7-55)
Retardo no diagnóstico (anos)*	7 (1-36)	8 (1-40)

* mediana e variação

4.2 Fenótipo dos pacientes com ICV

Dos 37 pacientes avaliados, todos eram sintomáticos e as manifestações mais frequentes foram as infecções respiratórias de repetição, acometendo 76% dos indivíduos. As manifestações infecciosas mais comuns no período que corresponde entre o diagnóstico e a administração das vacinas foram: pneumonia, seguido de sinusite, diarreia e IVAS. Diarreia crônica foi observada em 32% dos pacientes e em 16% observamos outras alterações gastrointestinais, como gastrite crônica e síndrome de má absorção. Em relação às bronquiectasias, 40% dos pacientes apresentavam imagens radiológicas sugestivas e compatíveis com o quadro clínico. Esplenomegalia foi confirmada por exame de USG (ultrassom) abdominal em 50% dos pacientes. Linfadenopatia foi encontrada em 35% dos pacientes.

Doenças autoimunes foram observadas em 30%, dentre elas tireoidite, retocolite ulcerativa, pancitopenia autoimune, gastrite atrófica e vitiligo. Neoplasias tinham sido diagnosticadas e tratadas em dois pacientes, um com neoplasia intestinal e outro com neoplasia de tireóide. Em nenhum paciente notou-se a presença de granulomas.

Em relação aos pacientes do grupo controle, observamos que 87% apresentavam infecções de vias aéreas de repetição ao diagnóstico. Diarreia crônica estava presente em 50% dos pacientes. A presença de bronquiectasias foi vista em 62% dos pacientes do grupo controle e as doenças autoimunes em 43%. Nenhum paciente apresentou neoplasias. Esplenomegalia e linfadenopatias estavam presentes em 56% e 50% do grupo de pacientes não vacinados respectivamente (**tabela 4**).

Tabela 4. Características clínicas dos pacientes com ICV

	ICV vacinados (n=45)	ICV não vacinados (n=16)
Infecções respiratórias recorrentes	34 (75%)	14(87,5%)
Esplenomegalia	22 (48,8%)	9 (56,2%)
Bronquiectasias	18 (40%)	10 (62,5%)
Linfadenopatia	17 (37,8%)	8 (50%)
Diarréia crônica	13 (28,9%)	8 (50%)
Perda de peso	10 (22,3%)	10 (62,5%)
Manifestações Gastrintestinais	8 (17,8%)	8 (50%)
Citopenias Autoimunes	3 (6,7%)	5 (31,2%)
Neoplasias	2 (4,5%)	0
Granulomas	0	0
Manifestações autoimunes	9 (20%)	7 (43,75%)

4.3 Dosagem de Imunoglobulinas

A dosagem sérica de imunoglobulinas foi avaliada antes e após a instauração do tratamento padrão (IVIg) e ao longo do estudo. A dosagem sérica média de IgG durante o estudo foi de 690mg/dl. A IgG sérica média antes do início da reposição de imunoglobulina humana foi de 200mg/dl.

Verificamos que os níveis de imunoglobulina G sérica dos pacientes Durante o estudo mantiveram-se estáveis não interferindo na análise do número e gravidade das infecções (**figura 1**).

Figura 1: Gráfico de imunoglobulina G sérica antes do início do tratamento padrão e durante o período do estudo.

4.4 Análise das manifestações clínicas

Em relação às infecções e às outras características observamos que houve redução significativa do score de sintomas quando avaliamos as sinusites antes do tratamento com imunoglobulina, após o início do tratamento com imunoglobulina e após a administração das vacinas citadas no estudo ($p < 0,001$) (**Figura 2**). No grupo controle observamos

redução do score de sinusites quando comparamos antes e após o início do tratamento com IVIg. Porém não foi observada redução adicional do número de infecções no período correspondente ao pós-vacina do grupo vacinado.

Figura 2: Score de sintomas referentes às sinusites pré tratamento com gamaglobulina, pós tratamento com gamaglobulina e pós vacinas. Valores estatisticamente significantes são representados por (*) para $P < 0,05$; (**) para $P < 0,01$; (***) para $P < 0,001$.

Quando analisamos o score de sintomas referente às IVAS, houve redução significativa do número de IVAS tanto nos períodos antes e após início do tratamento como em relação aos períodos pré-vacinal e pós-vacinal demonstrado na **figura 3** ($p < 0,001$). No grupo controle, não se observou diferença do número de infecções no período correspondente ao pós-vacina do grupo vacinado

Figura 3: Score de sintomas referente às IVAS antes da reposição de gamaglobulina humana, após início da reposição de gamaglobulina humana e um ano após a administração das vacinas no grupo de pacientes vacinados. Houve redução estatisticamente significativa entre os scores pré gama e pós gama e pós gama e pós-vacina. $P < 0,001$. $n = 37$.

Em relação ao score clínico referente às pneumonias, observamos uma redução do score quando foram comparados os períodos antes da administração de IVIg e após a administração de IVIg, assim como após a administração das vacinas. Semelhante às outras infecções, houve redução do score antes e após a reposição de IVIg no grupo de pacientes não vacinados, porém não houve diferença após a vacinação (Figura 4).

Figura 4: Score de sintomas referente às pneumonias antes da reposição de gamaglobulina humana, após início da reposição de gamaglobulina humana e um ano após a administração das vacinas. Houve redução estatisticamente significativa entre os scores pré gama e pós gama e pós gama e pós-vacina. $P < 0,001$. $n = 37$

Os pacientes apresentaram redução do score para amigdalites após o início do tratamento convencional com imunoglobulina, porém não houve diferença quando comparamos o score de amigdalites após a administração das vacinas. Os mesmos resultados foram observados em relação às otites. O grupo controle mostrou resultados semelhantes. (figuras 5 e 6)

Figura 5: Score de sintomas referente às amigdalites. Observamos redução do uso de antibiótico quando comparamos pré-gama (pré-tratamento convencional), pós-gama (pós-início do tratamento convencional). Porém não houve diferença entre o pré vacina e o pós vacina. Valores estatisticamente significantes com $p < 0,001$ (***) e $p < 0,01$ (**). $n=37$

Figura 6: Score de sintomas referente às otites. Observamos redução do score para otites quando comparamos pré-gama (pré-tratamento convencional), pós-gama (pós-início do tratamento convencional). Valores são estatisticamente significantes com $p < 0,01$ (**). $n=37$

Em relação ao uso de antibióticos no grupo vacinado, observamos que houve redução significativa quando comparamos o uso de ATB antes e após o início do tratamento convencional, com redução também significativa um ano após uso das vacinas ($p < 0,01$). Em relação ao grupo de pacientes não vacinados não observamos mudança no score após a vacinação. (**figura 7**).

Figura 7: Score de sintomas referente a uso de antibiótico terapêutico. Observamos redução do uso de antibiótico quando comparamos pré-gama (pré-tratamento convencional), pós-gama (pós-início do tratamento convencional) e pós-vacina (um ano após vacinas). Esses valores são estatisticamente significantes com $p < 0,001$ (***) e $p < 0,01$ (**). $n=37$

Houve redução do número de hospitalizações quando comparamos o score pré e pós-tratamento, porém não houve diferença estatisticamente significativa antes e após a administração das vacinas avaliadas no estudo.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas quando comparamos o score referente à diarreia, presença de bronquiectasias e o uso de antibióticos profiláticos entre o pré e pós-vacinas.

Quando comparamos o *score* geral de sintomas entre indivíduos do gênero masculino e feminino, observamos que o *score* de sintomas das mulheres foi mais elevado do que o dos homens no grupo de pacientes. Quando comparamos o *score* geral de sintomas entre pacientes vacinados e não vacinados observamos que o grupo de não vacinados obteve um maior *score* como observado nas figuras abaixo, porém não foi estaticamente significativo (**figura 8 e 9**):

Figura 8. Score de sintomas em mulheres caracterizando uma redução do *score* após o início do tratamento padrão e após a administração das vacinas. Porém não há diferença estaticamente significativa comparando com o grupo dos pacientes não vacinados. $P < 0,915$

Figura 8. Score de sintomas em homens caracterizando uma redução do score após o início do tratamento padrão e após a administração das vacinas. Porém não há diferença estaticamente significativa comparando com o grupo dos pacientes não vacinados. $P < 0,981$

Analizando a freqüência de infecções em mulheres observamos que as IVAS foram mais freqüentes antes da administração de IVIg, após o início da reposição de IVIg e após a administração das vacinas quando comparadas aos indivíduos do gênero masculino (**Figura 10**).

Figura 10: Frequência de infecções em mulheres nos períodos pré-gama, pós-gama e pós-vacinas (expresso em % no eixo y). Observamos maior freqüência de IVAS, seguidas de pneumonias. Houve redução importante da freqüência após início do tratamento e após as vacinas. $n=19$

Quando observamos a freqüência de infecções em homens observamos maior freqüência de IVAS, seguidos de pneumonias e sinusites nos três momentos: pré-gama, pós-gama e pós vacina, como podemos ver na **figura 11**.

Figura 11. Frequência de infecções em homens nos períodos pré-gama, pós-gama e pós-vacinas (expresso em % no eixo y). Observamos maior frequência de IVAS, seguidas de sinusites. Houve redução importante da frequência após início do tratamento e após as vacinas. n=18

Figura 12. Gráfico comparativo entre o número de infecções entre pacientes vacinados e não vacinados

4.5 Resultados das sorologias

4.5.1 Determinação de IgG específica para Influenza A subtipo H2N3

Dos 37 pacientes do grupo vacinado, dezesseis receberam a vacina contra Influenza. Observamos que a maioria dos pacientes apresentou títulos de anticorpos IgG específicos para Influenza variando de 12,1 a 20,0 unidades/ mL (**Figura 13**). Um paciente não apresentou produção de anticorpos específicos antes e após a vacinação.

Figura 13: Determinação de IgG específica para *Influenza*. São considerados valores positivos: OD > 0,82 para o sorotipo A e OD > 0,60 para o sorotipo B. DO= densidade óptica. (*) P< 0,05; (**) P< 0,01; (***) P< 0,001, (n=16).

Não observamos diferenças entre os títulos de anticorpos específicos para influenza antes e após a vacinação. Quando comparamos os títulos de IgG específica e a redução do score de sintomas, não observamos correlação (**tabela 5**).

Tabela 5. Correlação entre a redução do score de sintomas e a soroconversão dos pacientes com ICV vacinados para Influenza A e B

	Soroconversão	Não soroconversão	Total
Redução do score de sintomas	5 (31,2%)	8 (50%)	13 (81,2%)
Não houve redução do score de sintomas	1 (6,2%)	2 (12,5%)	3 (18,8%)
Total	6 (37,6%)	10 (62,5%)	16 (100%)

N=16, p=0,982 (qui-quadrado)

4.5.2 Determinação de IgG específica para H1N1

Para o ensaio de determinação de anticorpos IgG específicos para H1N1, foram testados os soros de 22 pacientes que receberam a vacina contra H1N1 (tempo 0,1, 3 e 6m).

Verificamos que após a vacinação, houve um aumento no título de IgG específica a partir de 1 mês, porém este título declinou ao longo dos meses, como pode ser observado na **figura 14**.

Figura 14: Determinação de IgG específica para Influenza A subtipo H1N1. Soroconversão é considerada a partir do título 1/40. Valores estatisticamente significantes foram representados por (*) para $P < 0,05$; (**) para $P < 0,01$; (***) para $P < 0,001$.

Não observamos correlação entre a redução do *score* de sintomas e os títulos de IgG específicas para H1N1 (**tabela 6**).

Tabela 6. Correlação entre a redução do *score* de sintomas e a soroconversão dos pacientes com ICV vacinados para H1N1

	Soroconversão	Não soroconversão	Total
Redução do <i>score</i> de sintomas	4 (18,18)	7 (31,81%)	11 (50%)
Não houve redução do <i>score</i> de sintomas	5 (22,72%)	6 (27,7%)	11 (50%)
Total	9 (40%)	13 (60%)	22 (100%)
N=22, P=0,995 (qui-quadrado)			

Em relação aos gêneros, não observamos diferença significativa das respostas na comparação dos tempos pré com os diferentes tempos após vacinação.

4.5.3 Resultados das sorologias para o pneumococo

Dos pacientes avaliados apenas 5 pacientes receberam a vacina contra o pneumococo (PP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente).

Tabela 7. Sorologias para os polissacárides 1, 3, 5, 6B, 9, 14 e 18

	<i>Pré vacinal SP1</i>	<i>Pós vacinal SP1</i>	<i>Pré vacinal SP3</i>	<i>Pós vacinal SP3</i>	<i>Pré vacinal SP5</i>	<i>Pós vacinal SP5</i>	<i>Pré vacinal SP6B</i>	<i>Pós vacinal SP6B</i>	<i>Pré vacinal SP9</i>	<i>Pós vacinal SP9</i>	<i>Pré vacinal SP14</i>	<i>Pós vacinal SP14</i>	<i>Pré vacinal SP18</i>	<i>Pós vacinal SP18</i>
CVID01	0,35	0,45	1,22	1,25	0,82	0,96	1,45	1,67	1,23	2,51	0,23	0,38	0,78	1,11
CVID02	0,21	0,78	0,98	1,45	0,33	0,56	1,34	1,35	1,24	1,56	1,23	1,26	2,13	1,26
CVID03	1,23	1,35	2,34	2,56	0,78	1,20	1,24	2,68	2,23	2,34	1,25	3,45	2,78	3,45
CVID04	0,45	0,67	2,76	3,46	0,89	0,93	2,43	4,68	1,37	2,40	2,45	2,99	0,78	1,22
CVID05	0,32	0,65	0,34	0,51	0,76	0,89	2,33	2,13	2,55	3,14	2,35	2,19	2,58	2,10

PS=polissacárides, SP= soroproteção

Dos pacientes avaliados em relação à sorologia para os sorotipos do pneumococo, encontrados os seguintes resultados:

Nenhum paciente apresentava títulos protetores pré e pós vacinais para os sorotipos 1 e 5. Dois pacientes tinham títulos protetores antes da vacinação para o sorotipo 3, 4 pacientes para o sorotipo 6B, 3 para o sorotipo 9, 2 para o sorotipo 14 e 3 para o sorotipo 18. Porém em nenhum paciente foram observados títulos de soroconversão após a vacinação contra o pneumococo.

5.Discussão

5 Discussão

A imunodeficiência comum variável é a imunodeficiência clinicamente relevante mais prevalente. É caracterizada principalmente por infecções de repetição, como as infecções de vias aéreas superiores e inferiores. Existem vários estudos que tentam correlacionar fenótipos clínicos e imunológicos destes pacientes com o intuito de caracterizar e classificar melhor a doença, já que consiste num grupo de pacientes com manifestações clínicas bastante heterogêneas.

Nosso estudo avaliou a resposta clínica de pacientes com ICV após a imunização com as vacinas H1N1 e Influenza (H3N2). O impacto das imunizações na população geral em relação à redução da morbimortalidade por doenças infectocontagiosas impressionou os especialistas no mundo. A imunidade conferida pela vacina da gripe reduz a probabilidade de infecções e diminui a gravidade da doença quando esta ocorre. Uma vez que as infecções mais comuns em pacientes com ICV são as IVAS, sinusites e pneumonias, a vacinação deste grupo de pacientes com consequente observação da redução do número de infecções seria de grande importância, mesmo sabendo que estes pacientes têm pobre produção de anticorpos específicos.

As características clínicas do grupo de pacientes foram semelhantes às encontradas na literatura. Dos pacientes avaliados, não houve predileção por gênero, exceto no grupo controle em que observamos um maior número de indivíduos do sexo masculino, porém sem significância estatística. A média de idade foi de 33 anos, caracterizando pacientes adultos jovens.

Observamos um retardo no diagnóstico de 7 anos, fato que é preocupante pelas complicações que estes pacientes irão apresentar devido principalmente às infecções de repetição. Cunningham-Rundles observou um atraso no diagnóstico de 6 a 8 anos em um grupo de pacientes com ICV. Maarschalk-Ellerbroek e colaboradores relatam um

retardo no diagnóstico de 10 anos em pacientes com ICV. Os custos para o sistema de saúde e o prejuízo para os pacientes são enormes. As complicações da doença causadas pelo retardo no diagnóstico, além de interferirem na qualidade de vida em relação à própria doença, levam o indivíduo a uma consternação relacionada ao trabalho e às atividades sociais. Em tempo, vale ressaltar que num estudo realizado pelo nosso grupo há alguns anos, o retardo de diagnóstico observado foi de 10 anos, o que mostra uma evolução no reconhecimento mais precoce desta doença.

Considerando as manifestações clínicas, as infecções respiratórias foram as mais frequentes, acometendo cerca de 95% dos pacientes. Maarschalk-Ellebreek e colaboradores observaram que 93% dos pacientes com ICV apresentavam infecções de vias aéreas antes do diagnóstico. Cunningham-Rundles (2009) observou que mais de 73% dos pacientes com ICV avaliados no estudo apresentavam infecções do trato respiratório, sendo que as pneumonias por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ou outras espécies de *Mycoplasma* eram as mais frequentes antes do diagnóstico. As infecções pneumocócicas ocorrem durante o ano todo, com maior frequência no inverno quando são mais comuns os fatores predisponentes como as viroses respiratórias e o aumento da poluição atmosférica. É o agente causador mais comum de pneumonias em adultos e o de maior frequência das pneumonias, sinusites e otites médias agudas (OMA) nas crianças (Baldy, 2005).

Bronquiectasias foram observadas em 40% dos pacientes e foram mais comuns nos indivíduos que tiveram mais pneumonias. Em 2010, Touw e col. em uma revisão de 26 trabalhos encontrou uma prevalência de bronquiectasias em pacientes com ICV entre 29 a 79%, mostrando que a prevalência de bronquiectasias nesta coorte está de acordo com a relatada na literatura. Esse dado nos mostra a importância do diagnóstico e tratamento precoce para indivíduos com ICV a fim de se evitar sequelas graves e incapacitantes. Agondi e colaboradores observaram

que num grupo de pacientes com ICV e com doença pulmonar obstrutiva o retardo no diagnóstico de 13 anos.

Observamos fenômenos autoimunes em 26,6% dos pacientes com ICV. Esses dados são semelhantes aos encontrados em outros estudos, embora tenhamos encontrado apenas 6% de pacientes com citopenias autoimunes. Cunningham-Rundles observou cerca de 20% dos pacientes com ICV e autoimunidade. Em outro estudo de nosso grupo, Kokron e colaboradores observaram uma prevalência de 15% de autoimunidade em pacientes com ICV. Alguns autores (Michel e col., 2004; Chapel e col., 2008) observaram a presença de citopenias autoimunes variando entre 4% e 20% dos pacientes com ICV.

Esplenomegalia foi encontrada em 48,8% dos indivíduos e linfadenopatia em 37,8%. Esses dados são semelhantes a outros achados e refletem uma provável linfoproliferação benigna que poderia ser decorrente das infecções recorrentes ou talvez, o resultado da desregulação imunológica característica da ICV.

Em relação aos níveis séricos de imunoglobulinas, observamos que antes da reposição de imunoglobulina humana, os níveis séricos eram cerca de 200mg/dL e após o início do tratamento elevou-se para 690mg/dL. Verificamos que os níveis de IgG sérica dos pacientes durante o estudo mantiveram-se estáveis não interferindo na análise do número e gravidade das infecções. Cunningham-Rundles observou que a dose de 600mg/kg de IVIg por mês ajuda a prevenir infecções e possivelmente a doença pulmonar crônica, embora para estes pacientes, seja necessário associar o uso de antibiótico profilático. Resnick e col (2011) observou que a mediana do nível de IgG dos pacientes com ICV antes do diagnóstico foi de 246 mg/dL, IgA foi 8 mg/dl e IgM 21 mg/dL. Lucas e col. (2010) fez uma revisão dos níveis de IgG pré-gama necessários para manter o paciente livre de infecções e observou que na ICV os níveis variam bastante e que pacientes com complicações como bronquiectasias, necessitam de doses mais altas. Dados como este

reforçam a importância da instituição de tratamento baseado nas manifestações do paciente e não apenas em níveis de IgG sérica.

Neste estudo, a análise das manifestações clínicas infecciosas mostrou redução do *score* para sinusites quando comparamos os períodos antes e após o início da reposição de imunoglobulina (50%), fato esperado devido aos benefícios conhecidos da reposição de imunoglobulina humana em pacientes com deficiências humorais como a ICV. É relevante notar que houve uma redução adicional de cerca de 50% no número de infecções quando comparamos os períodos pré e pós-vacinas. Esse achado evidencia o fato de que, mesmo com a característica produção deficiente de anticorpos nos pacientes com ICV, a imunização determinou uma queda estatisticamente significativa do número de sinusites. Além disso, em pacientes portadores de ICV a sinusite é a mais freqüente infecção de vias aéreas superiores e a de controle mais difícil, mesmo com a reposição de imunoglobulina. Talvez a administração da vacina contra o vírus influenza seja de grande auxílio na prevenção de infecções. A mesma redução do *score* ocorreu quando analisamos as IVAS: cerca de 50% de redução no *score* ao comparar o número de IVAS pré e pós-reposição de imunoglobulina e redução adicional quando comparamos as infecções nos períodos pré e pós-vacinas. Ambos os resultados foram estatisticamente significativos. Dados do Ministério da Saúde mostram que em adultos saudáveis vacinados contra influenza, estudos mostram uma taxa de redução de hospitalizações por influenza grave em cerca de 87% dos casos e redução de mortes em 78%.

Em relação às pneumonias, observamos uma redução do *score* quando comparamos antes do tratamento padrão e após o início do tratamento com IVIg. Nobre e colaboradores em um estudo que avaliou o impacto do tratamento com IVIg no número de pneumonias em pacientes com deficiência de anticorpos, observou uma redução considerável no número de pneumonias em pacientes com ICV após a instituição da reposição de IVIg. O mesmo foi observado em pacientes com diagnóstico de agamaglobulinemia ligada ao X. Ao compararmos o *score*

de sintomas para pneumonias após a vacinação, nos surpreendeu a redução do *score* de pneumonias. Talvez isso se deva à redução no número de infecções de vias aéreas superiores observados nestes pacientes e conseqüentemente menos complicações em relação às vias aéreas inferiores. Embora, tenhamos observado diferenças entre o *score* de pneumonias, não houve diferença em relação às bronquiectasias. Resnick e colaboradores (2012) observaram que 11% dos pacientes tinham bronquiectasias. Estudos mostram que episódios recorrentes de pneumonia e o próprio processo inflamatório não controlado apresentado pelos pacientes com imunodeficiência primária podem levar à doença pulmonar crônica e bronquiectasias.

A redução do *score* observada referente ao uso de antibióticos, possivelmente se deve à queda do número de eventos infecciosos. Com base nos dados da literatura, possivelmente outros mecanismos imunológicos podem estar envolvidos na proteção do indivíduo após estímulos com antígenos protéicos. Um desses mecanismos seria que os linfócitos T modulassem uma resposta imune independente da produção de anticorpos. McElhaney e colaboradores (2006) demonstraram que, em idosos, a resposta celular T se correlaciona melhor que a produção de anticorpos com a proteção vacinal. Entretanto, Sander e col. (2011) não observaram um aumento da resposta celular após a vacinação contra influenza em pacientes com ICV. Ainda, Hong e col (2007) demonstraram que monócitos ativados após estímulo com a Pneumovax® secretaram menos IL6, IL-10 e TNF- α em pacientes com ICV comparados com indivíduos saudáveis, caracterizando uma resposta imunológica diminuída.

Em relação à diarreia, não foram observadas alterações do número e gravidade deste sintoma relacionados ao uso da IVIg ou da vacinação. As alterações gastrointestinais foram observadas em 15% dos pacientes com ICV em um estudo que avaliou a sobrevida de 473 pacientes. Destes cerca de 2% apresentavam diarreia crônica. Entretanto, Kokron e col., em estudo que avaliou pacientes brasileiros com ICV, diarreia estava presente em 65% dos pacientes. A prevalência de sintomas

gastrointestinais aumentada na população de pacientes com ICV brasileiros é um dado interessante e possivelmente se deve às características locais. Cunningham-Rundles e col (2010) observaram que 21 a 57% dos pacientes com ICV apresentavam diarreia intermitente ou persistente como principal manifestação gastrointestinal.

Como esperado, constatou-se redução estatisticamente significativa no número de hospitalizações após o início da reposição da imunoglobulina humana. A literatura aponta que as maiores causas de hospitalizações e uso de antibioticoterapia em pacientes com imunodeficiências primárias são as infecções de vias aéreas superiores. Esse dado nos mostra mais uma vez os benefícios consideráveis da reposição da imunoglobulina nos pacientes com ICV. Cunningham-Rundles (2012) relatou que a terapia de reposição com imunoglobulina humana é o principal tratamento para a maioria das imunodeficiências primárias. Nas últimas três décadas houve um aumento na indicação da terapia de reposição de imunoglobulina, principalmente nas causas secundárias que levam à redução na produção de anticorpos como o uso prolongado de corticosteróides.

Na avaliação do *score* geral de sintomas, observamos que mulheres apresentaram *score* mais elevado do que os de homens. Notamos que as IVAS são as manifestações mais freqüentes entre homens e mulheres. Porém, a segunda maior causa de infecções em mulheres foram as pneumonias e em homens as sinusites. Ainda não há dados na literatura que justifiquem tal diferença. Resnick (2012) observou em uma coorte de pacientes com ICV que indivíduos do gênero feminino apresentavam níveis de IgM e de linfócitos B com troca de isotipo mais levados do que os indivíduos do gênero masculino. Porém vários estudos descrevem que não há diferenças significativas entre os gêneros feminino e masculino na ICV. Pedreschi e col (2011) avaliaram o perfil de subtipos de linfócitos B em pacientes com ICV e observou que, em mulheres, há aumento de linfócitos B naïve e população de células B CD21^{low}, e redução de plasmoblastos. Entretanto, não observou diferenças nas manifestações clínicas.

Influenza

Em relação à vacina de *Influenza*, observamos que os pacientes já apresentavam níveis de IgG específicos para *Influenza* no período pré-vacinação, porém não eram títulos considerados protetores. Após a vacinação houve um aumento nos títulos de anticorpos específicos para influenza, entretanto, esse resultado não foi significativo. A presença de IgG específica para influenza nos pacientes antes da vacinação pode ser explicada pela exposição prévia ao antígeno da influenza, já que estes pacientes têm um grande número de infecções de vias aéreas. Além disso, é possível que a própria IVIg contenha anticorpos contra influenza. Lamari e colaboradores (2000) avaliaram 20 lotes de imunoglobulina humana para uso intravenoso e observou a presença de anticorpos contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococci spp.* Kubota-Koketsu e colaboradores (2012) observaram que em lotes de imunoglobulina humana produzidas no Japão e nos Estados Unidos nos períodos de 1993 a 2010 havia títulos identificáveis de H2N2 (gripe Asiática) que variaram de acordo com o ano. Os autores concluem que títulos de anticorpos contra influenza presentes na imunoglobulina humana se correlacionam com a história de exposição ao vírus, sejam nas epidemias ou nas campanhas de vacinação.

Abbas e colaboradores avaliaram os títulos de anticorpos contra influenza H1N1/H3N2 e influenza B (vacina trivalente) e a resposta e função de linfócitos T de memória em pacientes com Síndrome de DiGeorge. O autor não observou diferença estatisticamente significativa entre os títulos de anticorpos pré e pós-vacinais entre pacientes adultos e controles saudáveis, bem como não encontrou diferença entre a proliferação e produção de IL-2 pelos linfócitos T. No grupo estudado, embora observemos uma redução no número de infecções de vias aéreas superiores, não houve correlação com os títulos de IgG para influenza nos pacientes com ICV, reforçando a possibilidade do envolvimento de outros mecanismos na proteção contra estes vírus.

H1N1

Em relação aos resultados obtidos com as sorologias para H1N1, observamos que, apesar de não haver significância estatística, houve uma discreta resposta inicial após a vacinação dos pacientes com ICV, que também não foi duradoura. De acordo com os dados já descritos no estudo, vimos que estes pacientes apresentaram uma resposta clínica favorável após a vacinação traduzindo-se pela redução do *score* de infecções de vias aéreas. Yunoki e colaboradores publicaram em 2009 um estudo em que foram avaliados 5 lotes de IVlg de um mesmo fabricante. Os autores observaram títulos de H1N1 maiores que 1/40 em 1,2% (7/580), 1/20 em 3,1% (18/580) e 1/10 em 4,3% (25/580) das amostras de IVlg testadas, indicando que no pool de doadores saudáveis existiam anticorpos contra H1N1.. Pedersen e col. (2011) estudaram a resposta a vacina H1N1 de quatro pacientes com hipogamaglobulinemia, três com ICV e um com agamaglobulinemia ligada ao X e observaram que dois pacientes com ICV foram capazes de produzir anticorpos específicos e células produtoras de anticorpos específicos para influenza apesar de estar em número reduzido. Ainda, observaram que a vacinação induziu resposta específica para influenza mediada por linfócitos TCD4⁺ T_H1 tanto nos pacientes com ICV como no paciente com agamaglobulinemia.

Pneumococo

Dos pacientes que avaliamos, vimos que a maioria não respondeu com títulos de anticorpos específicos de maneira satisfatória para os 7 sorotipos testados (1, 3, 5, 6B, 9, 14 e 18). Os sorotipos que causam doença invasiva testados no Brasil são semelhantes aos testados nos EUA. Desde a década de 70, encontra-se disponível a formulação de vacina pneumocócica, a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente (VPP23), baseada nos polissacárides capsulares purificados e incluindo os sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F. O antígeno polissacarídico induz resposta T-independente; dessa forma, não ocorre resposta duradoura.

Lactentes não respondem bem às vacinas polissacarídicas, pois apresentam fraca resposta aos antígenos T-independentes. Discute-se a eficácia dessa vacina inclusive para adultos devido à resposta pouco duradoura, porém os estudos apontam benefícios na população adulta em prevenir doença pneumocócica invasiva. Vários autores observaram uma pobre resposta sorológica após a vacinação anti-pneumocócica em pacientes com ICV comparados à população saudável. Este fato está relacionado principalmente ao defeito na resposta humoral que é característico dos pacientes com ICV.

A vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente é recomendada para indivíduos maiores de 2 anos, com doenças de base como: asplenia funcional (doença falciforme) ou anatômica, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), imunocomprometidos (por doença ou medicação, incluindo quimioterapia, corticoterapia), doenças crônicas, implante coclear, dentre outras, conferindo, no entanto (CDC, 2009).

Rezaei e col. (2008) sugeriram classificar os pacientes com ICV com base na resposta da vacina polissacarídica contra o meningococo. Os autores avaliaram 25 pacientes com ICV que receberam a vacina referida. Dezesseis pacientes tiveram títulos protetores de anticorpos contra o meningococo após três semanas da vacinação. Entre os pacientes em que não foi observada resposta específica, houve maior frequência nos achados de bronquiectasias, doenças autoimunes e esplenomegalia comparados ao outro grupo. Os mesmos autores avaliaram os níveis séricos de anticorpos contra o meningococo C um ano após a vacinação. Dos 23 pacientes vacinados o autor concluiu que a maioria foram respondedores da vacina e mantiveram a resposta após um ano. O autor sugeriu que esse fato pudesse estar relacionado a um melhor prognóstico dos pacientes do ICV.

Embora tenhamos avaliado um pequeno número de pacientes com ICV que receberam a vacina contra o pneumococo, observamos uma redução do número de infecções de vias aéreas superiores. Diante do fato que esses pacientes receberam concomitantemente as vacinas contra influenza e H1N1, precisaremos de estudos mais amplos e

controlados para avaliar se a associação da vacina contra o pneumococo com adjuvantes ou com vacinas de antígenos protéicos desencadeia uma resposta imunológica dependentes de células T.

Nossos dados mostram claramente que a vacinação para vírus influenza (H2N3 e H1N1) e pneumococo reduz o número de infecções respiratórias nos pacientes portadores de ICV, apesar de não haver produção de anticorpos específicos. Se pudéssemos demonstrar a associação da resposta clínica e vacinal a outros mecanismos imunológicos teríamos dados mais concretos para indicar a vacinação. Entretanto, a vacinação se mostrou segura e eficaz clinicamente, permitindo a indicação desta intervenção mesmo sem termos esclarecido o(s) mecanismo(s) pelo qual isto ocorre.

6. Conclusões

1. Todos os pacientes com ICV que participaram do estudo (vacinados ou não) apresentaram redução do *score* de sintomas quando comparamos os períodos pré e pós instituição do tratamento com IGIV.
2. Houve redução do número de infecções, especialmente sinusites, IVAS e pneumonias nos pacientes com ICV após a vacinação contra influenza, H1N1 e pneumococo.
3. Os pacientes portadores de ICV que foram vacinados contra influenza, H1N1 e pneumococo não produziram anticorpos específicos para estes microrganismos.
4. Embora não tenhamos encontrado concordância entre a redução do número de infecções e os títulos de anticorpos específicos para as vacinas testadas, a melhora clínica dos pacientes com ICV reforça o benefício da vacinação.
5. Este é o primeiro trabalho mostrando objetivamente a redução do número de infecções após vacinação em pacientes com ICV.
6. Sugerimos novos estudos para tentar explicar quais os outros mecanismos imunológicos que estão envolvidos na resposta vacinal nos pacientes com imunodeficiências humorais.

8.Referências Bibliográficas

8. Referências Bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH. **Cellular and Molecular Immunology**. 7th Ed. Philadelphia: Saunders Company; 2011.

Abonia JP, Castells MC. Common Variable Immunodeficiency. **Allergy Asthma Proc**, 23:53-7, 2002.

Aghamohammadi A, Allahverdi A, Abolhassani H, Moazzami K, Alizadeh, et al. Comparison of pulmonary diseases in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. **Respirology**, 15: 289-95, 2010.

Aghamohammadi A; Moein M; Farhodi A; Pourpak Z; Rezaei N; Abolmaali K; Movahedi M; Gharagozlou M; Ghazi BM; Mahmoudi M; Mansouri D; Arshi S; Trash Nj; Akbari H; Sherkat R; Hosayni RF; Hashemzadeh A; Mohammadzadeh I; Amin R; Kashef S; Alborzi A; Karimi A; Khazaei H: Primary Immunodeficiency In Iran: First Report of The National Registry of PID In Children And Adults. **J Clin Immunol**, 22:375-80, 2002.

Agondi RC, Barros MT, Rizzo LV, Kalil J, Giavina-Bianchi P. Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency. **Allergy**, 65: 510–515, 2010.

Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco JL, Geha RS, Hammarström L, Nonoyama S, Notarangelo LD, Ochs HD, Puck JM, Roifman CM, Seger R, Tang ML. Primary Immunodeficiency Diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. **Frontiers in Immunology**, 2(54):1-26, 2011.

Aruffo A, Farrington M; Hollenbaugh D; Li X; Milatovich A; Nonoyama A et al: The CD40 Ligand, Gp39, Is Defective In Activated T Cells

From Patients With X-Linked Hyper-Igm Syndrome. **Cell**, 72:291-300, 1993.

Bayry J, Hermine O, Webster DA, Levy Y, Kaveri SY. Common Variable Immunodeficiency: The Immune System in Chaos. **Trends Mol Med**, 11(8):370-6, 2005.

Belickova M, Schroeder HW, Guan JR, Brierre YL, Berney, Cooper S, Prchal JT. Clonal Hematopoiesis And Acquired Thalassemia In Common Variable Immunodeficiency. **Mol Med**, 1:56-61, 1994.

Bjorkander J; Bake B & Hanson LA: Primary hypogammaglobulinemia: Impaired Lung Function and Body Growth with Delayed Diagnosis And Inadequate Treatment. **Eur J Respir Dis**. 65(7): 529-36, 1984.

Bonilla FA, Geha RS. Common Variable Immunodeficiency. **Pediatr Res**, 65:13-19, 2009.

Bonilla FA, Geha RS: Primary Immunodeficiency Diseases. **J Allergy Clin Immunol**, 111:571-81, 2003

Boyum A. Separation of Blood Leucocytes, Granulocytes and Lymphocytes. **Tissue Antigens**, 269-74, 1974.

BRAGID. www.imunopediatria.org.br .

Braun J, Berberian L, King L, Sanz I, Govan Hi. Restricted Use of Fetal VH3 Immunoglobulin Genes By Unselected B Cells In The Adult: Predominance of 56p 1-Like VH Genes In Common Variable Immunodeficiency. **J Clin Invest**, 1395-402, 1992.

Brenner MK, North ME, Chadda HR, Newton CA, Malkovsky M, Webster AD, Farrant J: The Role of B Cell Differentiation Factors And Specific T Cell Help In The Pathogenesis of Primary Hypogammaglobulinemia. **Eur. J. Immunol**. 14:1021-7, 1984.

Bristish Medical Research Council-152. Hypogamaglobulinemia In The U.K. London: Medical Reserch Council Special Series 310, 1971.

Buckley RH. Immunodeficiency Diseases. **JAMA**, 268: 2797-2806, 1992.

Busse PJ, Razvi S, Cunningham-Rundles C. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the prevention of pneumonia in patients with common variable immunodeficiency. **J Allergy Clin Immunol**, 109:1001-4, 2002.

Cunningham-Rundles C. Key aspects for successful immunoglobulin therapy of primary immunodeficiencies. **Clin Exp Immunol**, 164 (suppl. 2): 16-19, 2011.

Carsetti R, Rosado MM, Dono S, Guazzi V, Soresina A, Meini A, et al. The Loss of IgM Memory B Cells Correlates with Clinical Disease In Common Variable Immunodeficiency. **J Allergy Clin Immunol**, 115:412-7, 2005.

Castigli E & Geha RS. Molecular Basis of Common Variable Immunodeficiency. **J Allergy Clin Immunol**, 117:740-6, 2006.

Chan SH, Koobayashi M, Santoli D, Perussia B, Trinchieri G. Mechanisms of IFN- γ Induction by Natural Killer Cell Stimulatory Factor (NkSF/IL-12). Role of Transcription and RNAm Stability in the Synergistic Interaction Between Nksf and IL-2. **J Immunol**, 92-8, 1992.

Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, Fieschi C, Thon V, Abedi MR, Hammarstrom L. Common Variable Immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. **Blood** 112, 277-286, 2008.

Chapel H & Cunningham-Rundles C. Update in understanding Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. **Br J Haematol**. 145:709-27, 2009.

Conley ME; Cooper MD. Genetic Basis of Abnormal B Cell Development. **Curr Opin Immunol**. 10(4):399-406,1998.

Conley ME; Notarangelo LD.; Etzioni A. Diagnostic Criteria for the Primary Immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). **Clin Immunol**, 93(3): 90-7, 1999.

Cooper MD.; Lawton AR.; Bockman DE. Agamaglobulinemia with B Lymphocytes. Specific Defect of Plasma-Cell Differentiation. **Lancet**, 2:791-4, 1971.

Costa-Carvalho BT, Condino-Neto A, Sole D, Rosário-Filho N et al. Consenso Brasileiro sobre o uso de Imunoglobulina Humana em pacientes com Imunodeficiência Primária. **Rev Bras Alerg Immunopatol**; 33:104-16, 2010.

Cunningham-Rundles C.; Siegal F.P.; Cunningham-Rundles S.; Lieberman P. Incidence of Cancer in 98 Patients with Common Variable Immunodeficiency. **J Clin Immunol**,. 7:294-99, 1987.

Cunningham-Rundles C; Bodian C. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 Patients. **J Clin Immunol**. 92:34-48, 1999.

Cunningham-Rundles C: Common Variable Immunodeficiency. **Curr Allergy Asthma Rep**, 1(5): 421-9, 2001.

Cunningham-Rundles C. Altschul A .Chronic Urticaria Angioedema as the First Presentations of Common Variable Immunodeficiency. **J Allerg Clin Immunol**. 110: 664-5, 2002.

Cunningham-Rundles C, Radigan L. Deficient IL-12 and Dendritic Cell Function In Common Variable Immune Deficiency. **Clin Immunol**, 115(2): 147-53, 2005.

Cunningham-Rundles C. Autoimmune Manifestations in Common Variable Immunodeficiency. **J Clin Immunol**, 28 (Suppl): S42-S45, 2008.

Cunningham-Rundles C. How I treat common variable immune deficiency. **Blood**, 116(1): 7-15, 2012.

De La Concha Eg, Fernandez-Arquero M, Martinez A, Vidal F, Vigil P, Conejero L, Garcia-Rodriguez Mc, Fontan G. HLA Class II Homozygosity Confers Susceptibility To Common Variable Immunodeficiency (CVID). **Clin Exp Immunol**, 116(3):516-20, 1999.

Duarte AJS.; Vasconcelos DM; Sato MN.; Saless JMF.; Yamaguchi,N.H.; Brigido, L.F.M.; et al. Imunodeficiência Comum Variável (Hipogamaglobulinemia de Início Tardio ou Hipogamaglobulinemia Adquirida); Seguimento Inicial De 11 Casos. **Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo** 45: 91-4, 1990.

Eisenstein EM.; Chua K.; Strober WB. Cell Differentiation Defects In Common Variable Immunodeficiency Are Ameliorated After Stimulation With Anti-Cd40 Antibody And Il-10. **J Immunol**. 152: 5957-67, 1994.

Esolen LM, Fasano MB, Flynn J, Burton A, Lederman HM. Pneumocystis Carini Osteomyelitis in A Patient with Common Variable Immunodeficiency. **N Engl J Med**. 326: 999-100, 1992.

Farrant J.; Bryant A, Almandoz F.; Spickett G.; Evans SW.; Webster ADBB. Cell Function In Acquired “Common-Variable” Hypogamagloblobulinemia: Proferative Responses To Lymphokines. **Clin Immunol Immunopathol**. 51: 196-204, 1989.

Farrant J. Bryant AE, Lever AA. Edwards AJ., Knight SC., Webster AD. Defective Low-Density Cells of Dendritic Morphology from the Blood of Patients with Common Variable Hypogammaglobulinaemia: Low Immunoglobulin Production on Stimulation of Normal B Cells. **Clin. Exp. Immunol**. 61: 189-94, 1985.

Farrington M.; Grosmaire LS. Nonoyama S; Fischer SH, Hollenbaugh D.; Ledbetter JA et al. CD 40 Ligand Expressions Is Defective In A Subset of Patients With Common Variable Immunodeficiency. **Proc Natl Acad Sci USA**. 91: 1099-103, 1994.

Garcês & Ouricuri. Imunodeficiências Primárias: Quando Suspeitar. In: **Diagnóstico e Tratamento Das Doenças Imunológicas**. Geller & Schienberg, 1ª Edição, Rio De Janeiro. Elsevier Pg 237-240, 2005.

Giovannetti A.; Pierdominici M.; Mazzetta F.; Marziali M.; Renzi C e col. Unravelling the Complexity of T Cell Abnormalities in Common Variable Immunodeficiency. **J Immunol**, 178:3932-3943, 2007.

Gompels MM.; Hodges E.; Lock RJ.; Angus B.; Write H.; Larkin A. Et AL. Lymphoproliferative Disease In Antibody Deficiency: A Multi-Centre Study. **Clin Exp Immunol**.134: 314-20, 2003.

Gorczynski R: **Imunologia Clínica**. Rio De Janeiro, Reichman E Afonso Editora, 2001.

Greene WC. Regulation of HIV-1 Gene Expression. **Annu Rev Immunol**. 8: 453-76, 1990.

Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, Glocker E, Warnatz K, Drager R, Et Al Homozygous Loss Of ICOS Is Associated With Adult-Onset Common Variable Immunodeficiency. **Nat Immunol**; 4:261-8, 2003.

Grumach AS. Duarte AJS: **Imunodeficiências Primárias. Alergia e Imunologia Na Infância e na Adolescência**; Anete Sevciovic; Editora Atheneu; São Paulo; Brasil; 1; 1, 2001.

Hammarstrom L, Vorechovsky I, Webster Adb: Selective IgA Deficiency (SIgAD) and Common Variable Immunodeficiency (CVID). **Clin Exp Immunol** 120:225-231, 2000.

Harari A, Florence V, Pantaleog. Phenotypic Heterogeneity of Antigen-Specific Cd4 Cells Under Different Conditions Of Antigen Persistence And Antigen Load. **Eur J Immunol**. 34: 3525-3533, 2004.

Hayakawa H.; Iwata T.; Yata J.; Kobayashi N. Primary Immunodeficiency Syndrome in Japan. I. Overview of a Nation Wide

Survey On Primary Immunodeficiency Syndrome. **J Clin Immunol**. 1: 31-9, 1981.

Heeney MM; Zimmerman SA.; Ware RE. Childhood Autoimmune Cytopenia Secondary to Unsuspected Common Variable Immunodeficiency. **J Pediatr**. 143:662-5, 2003.

Himes Sr, Reeves R, Attema J, Nissen M, Li Y, Shannon Mf. The Role of High-Mobility Group I(Y) Proteins in Expression of Il-2 and T cell Proliferation. **J Immunol**, 164: 3157-68, 2000.

Hong R, Agrawal S, Gollapudi S, Gupta S. Impaired Pneumovax-23-Induced Monocyte-Derived Cytokine Production in Patients with Common Variable Immunodeficiency. **J Clin Immunol**, 30(3): 435-41, 2010.

Hong R. Update on the Immunodeficiency Diseases. **Am J Dis Child**. 144: 983-92, 1990.

Jawad AF, Prak EL, Boyer J, McDonald-McGinn DM, Zackai E, McDonald K, Sullivan KE. A Prospective Study of Influenza Vaccination and a Comparison of Immunologic Parameters in Children and Adults with Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome (DiGeorge Syndrome / Velocardiofacial Syndrome) **J Clin Immunol**, 31(6):927-35, 2011.

Center fo Disease Control and Prevention 15 october 2009. 2009 H1N1 Vaccination Recommendations. Acesso em: 17 dez 2012.

disponível em : <http://www.cdc.gov/h1n1flu/vaccination/acip.htm>

Iseki. M; Heiner DC. Immunodeficiency Disorders. **Pediatr Rev**. 14: 226-36, 1993.

Kaczmariski RS, Webster AD, Moxham J, Davison F, Sutherland S, Mufti GJ. CD4+ Lymphocytopenia Due To Common Variable

Immunodeficiency Mimicking AIDS. **J Clin Pathol.** 47(4): 364-6, 1994.

Kamin RM, Fudenberg HH, Douglas SD. A Genetic Defect in "Acquired" Agamaglobulinemia". **Proc Nat Acad Sci USA.** 60: 881-5, 1968.

Kaneko H, Katagiri-Kawabem, Motoyoshi F, Tashita H, Teramoto T, Kondo N. Abnormal B Cell Response Of Protein Kinase C In Some Common Variable Immunodeficiency. **Exp Clin Immunogenet**, 13:36-42, 1996.

Kart L, Tor M, Altin R, Tekin Io, Sayarluoglu H, Ustundag Y, Gun Bd. Common Variable Immunodeficiency In An Adult With Recurrent Pneumonia. **Monaldi Arch Chest Dis.** 59(1): 84-7, 2003.

Keestra RW. . House calls to patients with an immunodeficiency disorder. **Tijdschr Kindergeneesk.** 56(5):218-25, 1988.

Kircher S & Marquardt D.: Introduction to the Immune System. In: **Manual Of Allergy and Clinical Immunology.** Ed Adelman, Casale & Corren, 4th Edition. Lippincott, Williams & Wilkins, 1-23, 2002.

Kirkpatrick CH, Schimke RN. Paternal Immunoglobulin Abnormalities in Congenital Hypogammaglobulinemia. **JAMA.** 200: 105-10, 1967.

Knight SC, Stagg A: Antigen-Presenting Cell Type. **Curr Opin Immunol** 5: 374-82 1993.

Kokron CM, Errante PR, Toledo-Barros M, Baracho GV, Camargo MM, Kalil J, Rizzo LV. Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. **Acad Bras Ciênc**, 76: 1-20, 2004.

Kokron CM. Imunodeficiências Primárias. In: **Diagnóstico e Tratamento Das Doenças Imunológicas.** Geller & Scheinberg, 1^a Edição, Rio de Janeiro. Elsevier Pg 243-250, 2005.

Kondratenko I, Amlot PI.; Webster Ad.; Farrant J. Lack Of Specific Antibody Response In Common Variable Immunodeficiency (CVID)

Associated With Failure In Production Of Antigen-Specific Memory T Cells. **Clin Exp Immunol**. 108: 9-13, 1997.

Kubota-Koketsu R, Yunoki M, Okuno Y, Ikuta K. Significant neutralizing activities against H2N2 influenza viruses in human intravenous immunoglobulin lots manufactured from 1993 to 2010. **Biologics**, 6, 245-247, 2012.

Kuribayashi Js, Bombardieri Cr, Baracho Gv, Aliberti J, Machado Fs, Kalil J, Guilherme L, Kokron CM, Rizzo LV, De Camargo Mm. Slower Rescue Of Er Homeostasis By The Unfolded Protein Response Pathway Associated With Common Variable Immunodeficiency. **Mol Immunol**, 45(10):2990-7, 2008.

Lamari F, Karamanos NK, Papadopoulou-Alataki E, Kanakoudi-Tsakalidou F, Dimitracopoulos G, Anastassiou ED. Monitoring of two intravenous immunoglobulin. Preparations for immunoglobulin G subclasses and specific antibodies to bacterial surface antigens and relation with their levels in treated immunodeficient patients. **J Pharm Biomed Anal.**, 22(6): 1029-36, 2000.

Lekstrom-Himes JA. Gallin JI. Advances in Immunology: Immunodeficiency Diseases Caused By Defects in Phagocytes. **N Engl J Med**, 343:1703-1714: 7, 2000.

Litwin Sd.; Fudenberg Hh. Quantitative Abnormalities of Allotypic Genes In Families With Primary Immune Deficiencies. **Proc Natl Acad USA**, 69: 1739-43, 1972.

Maarschalk-Ellebroek LJ, Hoepelman AIM, van Montfrans JM e Ellebroek PM. The Spectrum of Disease Manifestations in Patients with Common Variable Immunodeficiency Disorders and Partial Antibody Deficiency in a University Hospital. **J Clin Immunol**, 32: 907-921, 2012.

Maarschalk-Ellebroek LJ, Hoepelman IM, Ellebroek PM.

Immunoglobulin treatment in primary antibody deficiency. **Int J Antimicrob Agents**. 37(5): 396-404, 2011.

Macura AB, Macura, BA, Pawlik B. Susceptibility to Fungal Infections of Nails in Patients with Primary Antibody Deficiency. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, 26: 223-32, 2003.

Manual de vacinações. FUNASA, Ministério da saúde. Brasil. 2001

Martinez-Pomar S, Raga J, Ferrer J, Pons I, Munoz Smr, Julia Jgn, Matamoros: **Clin Exp Immunol**, 233-238, 2006.

McElhaney JE, Xie D, Hager WD, Barry MB, Wang Y, Kleppinger A, Ewen C, Kane KP, Bleackley RC. T Cell Responses are Better Correlates of Vaccine Protection in the Elderly. **J Immunol**, 176:6333-6339, 2006.

Michel M, Chanet V, Galicier L, Ruivard M, Levy Y, Hermine O, Oksenhendler E, Schaeffer A, Bierling and Godeau B. Autoimmune thrombocytopenic púrpura and common variable immunodeficiency: analysis of 21 cases and review of the literature. **Medicine** (Baltimore) 83, 254-263, 2004.

Mouillot G, Carmagnat M, Gérard L, Garnier JL, Fieschi C, Vince N, Karlin L, Viallard JF, Jaussaud R, Boileau J, Donadieu J, Gardembas M, Schleinitz N, Suarez F, Hachulla E, Delavigne K, Morisset M, Jacquot S, Just N, Galicier L, Charron D, Debré P, Oksenhendler E, Rabian C; DEFI Study Group. B-Cell and T-Cell Phenotypes in CVID Patients Correlate with the Clinical Phenotype of the Disease **Clin Immunol**, 30:746–755, 2010.

Mueller BU, Pizzo PA. Medical Progress: Cancer In Children With Primary And Secondary Immunodeficiencies. **J Pediatr**. 126: 1-10, 1995.

Muscaritoli M, Fanfarillo F, Luzi G, Sirianni MC, Iebba F, Laviano A, Russo M, Aiuti F, Rossi Fanelli F. Impaired nutritional status in

common variable immunodeficiency patients correlates with reduced levels of serum IgA and of circulating CD4⁺ T lymphocytes. **Eur J Clin Invest.**, 31(6):544-9, 2001.

Nobre FA, Gonzles IGS, Melo KM, Dantas EO, Lawrence TC, Nudelman V, Costa-Carvalho BT. Efficacy of immunoglobulin therapy in reducing pneumonia in patients with antibody deficiencies. **Rev Bras. Alerg. Immunopatol.** 35(1), 2012.

North ME; Webster ADB; Farrant J: Primary Defect In CD8⁺ Lymphocytes In The Antibody Deficiency Disease (Common Variable Immunodeficiency): abnormalities In Intracellular production of interferon-gama (IFN- γ) in CD28⁺ ("Citotoxic") and CD28⁻ ("Suppressor") CD8⁺ Subsets. **J Clin Invest**, 92: 1282-7, 1993.

Notarangelo L, Casanova JI, Fischer A; Puck J, Rosen F, Seger R, Geha R. For The International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee: Primary Immunodeficiency Diseases: An Update. **J Allergy Clin Immunol**; 114:677-87, 2004.

Park MA, Li JT, Hagan JB, Maddox DE, Abraham RS. Common Variable Immunodeficiency: A New Look At An Old Disease. **Lancet**, 372: 489-502, 2008.

Pedersen G, Halstensen A, Sjursen H, Naess A, Kristoffersen EK, Cox RJ. Pandemic influenza vaccination elicits influenza-specific CD4⁺ Th1-cell responses in hypogammaglobulinaemic patients: four case reports. **Scand J Immunol**, 74(2):210-8, 2011.

Pinchuk Lm, Klauss Sj, Magaletti M, Pinchuk Gv, Norsen Jp, Clark E. A. Functional CD40 Ligand Expressed By Human Blood Dendritic Cell Is Up-Regulated By CD4 Ligation. **J Immunol.**157:4363-70, 1996.

Piqueras B, Lavenu-Bombled C, Galicier L, Bergeron-van der Cruyssen F, Mouthon L, Chevret S, Debr P, Schmitt C, Oksenhendler E. Common variable immunodeficiency patient

classification based on impaired B cell memory differentiation correlates with clinical aspects. **J Clin Immunol**, 23: 385-400, 2003.

Plotkin SA. Vaccination against the major infectious diseases. **C R Acad Sci III**. 322 (11): 943-51, 1999.

Purtilo Dt.; Yang J.Ps; Cassel Ck; Harper R; Stephenson Sr; Landing Bh.; Vawter Gf. X-Linked Recessive Progressive Combined Variable Immunodeficiency (Duncan`S Disease). **Lancet**, 1: 935-40, 1975.

Raeiszadeh M, Kopycinski J, Paston SJ, Diss T, Lowdell M, Hardy GA, Hislop AD, Workman S, Dodi A, Emery V, Webster AD. The T cell Response to Persistent Herpes Virus Infections In Common Variable Immunodeficiency. **Clin Exp Immunol**, 146(2): 234-42, 2006.

Resnick E S, Erin I. Moshier, James H. Godbold and Charlotte Cunnighnam-Rundles. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. **Blood**, 119: 1650-57, 2012.

Rezaei N, Aghamohammadi A, Siadat Sd, Moin M, Pourpak Z, Nejati M, Ahmadi H, Kamali S, Norouzian D, Tabaraci B, Read Rc. Serum Bactericidal Antibody Response To Meningococcal Polysaccharide Vaccination As A Basis For Clinical Classification Of Common Variable Immunodeficiency. **Clin Vaccine Immunol**,15(4): 607-11, 2008.

Rezaei N, Siadat SD, Aghamohammadi A, Moin M, Pourpak Z, Norouzian D, Mobarakeh JI, Aghasadeghi MR, Nejati M, Read RC. Serum bactericidal antibody response 1 year after meningococcal polysaccharide vaccination of patients with common variable immunodeficiency. **Clin Vaccine Immunol**, 17(4):524-8, 2010.

Rizzo LV & Silva SL. Autoimmunity in Common Variable Immunodeficiency. **J Clin Immunol**, 1: S46-S55, 2008.

Rosen FS; Cooper MD.; Wedwood RJ: The Primary Immunodeficiencies. **N Engl J Med**. 333: 431-40, 1995.

Ryser O; Morell A, Hitzig Wh. Primary Immunodeficiencies in Switzerland: First Report of the National Registry in Adults and Children. **J Clin Immunol**. 8: 479-85, 1988.

S. Goldacker a, R. Draeger a, K. Warnatz a, D. Huzly b, U. Salzer a, J. Thiel a, H. Eibel a, M. Schlesier a, H.H. Peter a. Active Vaccination in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID). **Clin Immunol**.124: 294–303, 2007.

Salzer U; Grimbacher B: Tacitly Changing Tunes: Farewell to a Yin and Yang of Baff Receptor and TACI in Humoral Immunodeficiency. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**. 5: 496-503, 2005.

Sander van Assen, Aalzen de Haan, Albert Holvast, Gerda Horst, Linda Gorter, Johanna Westra, Cees G.M. Kallenberg, Denise S. C. Telgt, Abraham M. Palache, Katinka M. Giezenman, Marc Bijl. Cell-mediated immune responses to inactivated trivalent influenza-vaccination are decrease in patients with common variable immunodeficiency. **Clin Immunol**, 141,161-168, 2011.

Sanford JP; Favour CB; Tribeman MS. Absence Of Serum Gammaglobulins In An Adult. **N Engl J Med**. 250: 1027-9, 1954.

Schroeder HW Jr, Zhu ZB, March RE, Campbell RD, Berney SM, Nedospasov SA, Turetskaya RL, Atkinson TP, Go RC, Cooper MD, Volanakis JE. "Susceptibility Locus for IgA Deficiency and Common Variable Immunodeficiency in the Hla-Dr3, -B8, -A1 Haplotypes." **Mol Med**, 4: 72-86, 1998.

Schwartz R, Porat Yb, Ahandzel Z.; Sthoeger Z; Garty Bz; Confino-Cohen R et Al. Identification Of A Subset Of Common Variable Immunodeficiency Patients With Impaired B- Cell Protein Tyrosine Phosphorylation. **Clin Diagn Lab Immunol**. 6: 856-60, 1999.

Scott-Taylor TH, Green MRJ, Eren E, Webster ADB. Monocyte Derived Dendritic Cell Responses In Common Variable Immunodeficiency. **Clin Exp Immunol**, 138: 484-90, 2004.

Seder R A, Darrah P A, Roederer M. T-Cell Quality In Memory And Protection: Implications For Vaccine Design. **Nat Rev Immunol**, 8(4):247-258, 2008.

Sneller Mc. Common Variable Immunodeficiency. **Am. J. Med. Sci.** 321: 42-8, 2001.

Souza F. Vacinação antitetânica em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável. **Trabalho de aprimoramento**. São Paulo (SP): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2007.

Spickett Gp: Current Perspectives on Common Variable Immunodeficiency (CVID). **Clin Exp Allergy**. 31: 536-42, 2001.

Spickett GP; Farrant ME; North ME; Zhang J; Morgan L; Webster AD. Common Variable Immunodeficiency: How Many Diseases? **Immunol Today**. 18(7):325-8, 1997.

Steinman RM. The Dendritic Cell System And Its Role In Immunogenicity. **Annu Rev Immunol**. 9: 271-96, 1991.

Stockwin LH, Mcgonagle D; Martin Ig; Blair Ge: Dendritic Cells: Immunological Sentinels with a Central Role In Health And Disease. **Immunol. Cell. Biol**. 78: 91-102, 2000.

Strauss SE, Seidlin M, Takiff M, Jacobs D, Bowen D, Smith HA. Oral Acyclovir to Suppress Recurring Herpes Simplex Virus Infections in Immunodeficient Patients. **Ann Intern Med**; 100: 522-4, 1984.

Strober W, Chua K. Common Variable Immunodeficiency. **Clin Rev Allergy Immunol**. 19(2): 157-81, 2000.

Tiller TI JR, Liddle KJ. Immunodeficiency Problems In Children. **J S C Med Assoc**, 96(5): 225-8, 2000.

Touw CML, van de Ven AA, de Jong PA, Terheggen-Lagro S, Beek E, Sanders EAM, van Montfrans JM. Detection of pulmonary complications in common variable immunodeficiency. **Pediatr Allergy Immunol**, 21: 793–805, 2010.

Van Zelm MC, Reisli I, Van Der Burg M, Castano D, Van Noesel CJ, Van Tol MJ, Woellner C, Grimbacher B, Patino PJ, Van Dongen JJ, Franco JL. An Antibody-Deficiency Síndrome Due to Mutations in The CD19 Gene. **N Engl J Med**. 354:1901-12, 2006.

Vorechovsky I, Cullen M, Carrington M, Hammarstrom L, Webster AD. Fine Mapping of IgAd1 in IgA Deficiency and Common Variable Immunodeficiency: Identification and Characterization of Haplotypes Shared By Affected Members of 101 Multiple-Case Families. **J Immunol**. 164:4408-16, 2000.

Warnatz K, Bossaller L, Salzer U, Skrabl-Baumgartner A, Schwinger W, Van Der Burg M, Van Dongen Jj, Orlowska-Volk M, Knoth R, Durandy A, Draeger R, Schlesier M, Peter HH, Grimbacher B. Human ICOS Deficiency abrogates the germinal center reaction and provides a monogenetic model for Common Variable Immunodeficiency. **Blood**. 107:3045-52, 2006.

Warnatz K, Denz A, Drager R, Braun M, Groth C, Wolff-Vorbeck G, Eibel H, Schlester M, Peter H. Severe Deficiency of Switched Memory B Cells (CD27+IgM-IgD-) In Subgroups of Patients With Common Variable Immunodeficiency: A New Approach To Classify a Heterogeneous Disease. **Blood**, 99:1544-1551, 2002.

Webster ADB. Common Variable Immunodeficiency. Humoral Immunodeficiencies. **Immunol Allergy Clin North Ame**. 21: 1-22, 2001.

Wehr C, Kivioja T, Schimitt C, et al. The EURO class trial: Defining subgroups in common variable immunodeficiency. **Blood**, 11; 77-85, 2008.

Wen, Clinical And Laboratory Evaluation Of Complement Deficiency, **J Allergy Clin Immunol**, 113 (4): 585-593 , 2004.

WHO Scientific Group. Primary Immunodeficiency Diseases: Report of A WHO Scientific Group. **Clin Exp Immunol**. 99: 1-124, 1997.

With CIE.; Backesjo CMA.; Berglof LJ.; Islam T.; Mattsson PT.; Mohamed Al et Al. X-Linked Agammaglobulinemia: Lack Of Mature B Lineage Cells Caused By Mutations In The Btk Kinase. **Semin Immunopathol.** 19: 369-81, 1998.

Wollheim FA. Inherited "Acquired" Hypogammaglobulinemia. **Lancet.** 1: 316-7, 1961.

Yarchoan R, Schneider HS, Wray BB, Nelson DI. Specific Anti-influenza Virus Antibody Production In Vitro by Lymphocytes from a Subset of Patients with Hypogammaglobulinemia. **J Clin Invest** 71:1720-1727, 1983.

Yarmohammadi H, Estrella L, Doucette J, and Cunningham-Rundles C. Recognizing Primary Immune Deficiency in Clinical Practice. **Clin Vaccine Immunol**, 13: 329-332, 2006.

Yunoki M, Kubota-Koketsu R, Urayama T, Sasaki T, Analiwa D, Konoshima Y, Ideno S, Kukunaga Y, Morikawa S., Horoi S, Takahashi K, Okuno Y, Hagiwara K, Ikuta K., Significant neutralizing activity of human immunoglobulin preparations pandemic 2009 H1N1. **Br J Haematol**, 148, 948-963, 2009.

Zhou Z.; Huang R.; Danon M.; Mayer L.; Cunningham-Rundles, C. IL10 Production In Common Variable Immunodeficiency. **Clin Immunol Immunopathol**, 86: 298-304, 1998.

Zhu Q.; Zhang M.; Raelings DR.; Vihinen M.; Hagemann T.; Saffran DC.; Kwan S-P.; Nilsson L.; Smith Cie.; Witte On; Chen S-H.; Ochs Hd. Deletion Within The Src Homology Domain 3 Of Bruton's Tyrosine Kinase Resulting In X-Linked Agammaglobulinemia (Xla). **J Exp Med**, 180: 461-70 1994.

9. Anexos

9. Anexos

Anexo A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	96
Anexo B - <i>Score</i> para avaliação clínica e indicação de reposição de gamaglobulina em pacientes com ICV	101
Anexo C - <i>Score</i> de clínico pré-reposição de gamaglobulina.....	102
Anexo D - <i>Score</i> clínico após reposição de gamaglobulina e pré-administração das vacinas.....	104
Anexo E - <i>Score</i> após administração das vacinas	106
Anexo F - Aprovação da CAPPesq	108

Anexo A

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME::.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO NºAPTO:

BAIRRO.....CIDADE.....

CEP:.....TELEFONE:DDD
(.....).

2.RESPONSÁVEL

LEGAL.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO:NºAPTO:

BAIRRO:.....CIDADE:

CEP:.....TELEFONE:DDD
(.....).

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Avaliação da resposta antígeno-específica em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável após administração de antígenos protéicos e polissacarídicos

2. PESQUISADOR : Cristina Maria Kokron

CARGO/FUNÇÃO.Médica assistente. INSCRIÇÃO CONSELHO
REGIONAL Nº: 49888

UNIDADE DO HCFMUSP: Disciplina de Alergia e Imunologia Clínica

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 anos

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – **Desenho do estudo e objetivo(s)** Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo. O senhor (a) tem imunodeficiência comum variável que é uma doença proveniente do defeito na produção de anticorpos. Alguns trabalhos têm mostrado que além da produção defeituosa de anticorpos outras alterações nas células do sangue que também participam da defesa imunológica podem estar alteradas. Devidos estas alterações, os pacientes têm muitas infecções de repetição, como sinusites e pneumonias. Dessa forma,

seria interessante encontrar uma maneira de melhorar a imunidade e com isso diminuir a quantidade de infecções. As vacinas poderiam contribuir para a redução do número de infecções. Não há nenhum estudo no Brasil relacionando vacinas em imunodeficiências primárias . Estamos convidando você para participar deste estudo inovador no nosso meio. Se concordar, você receberá vacina contra a gripe e contra pneumonia. Vamos colher 30 mL de sangue para completar a pesquisa analisando se há produção de anticorpos após a administração das vacinas.

2– Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

As vacinas contra a gripe e pneumonia serão aplicadas no mesmo dia uma em cada braço, intramuscular conforme as orientações do Ministério da Saúde. Colheremos também 30 ml de sangue para fazer a pesquisa dos anticorpos antes e depois da administração das vacinas.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados –
os mesmos procedimentos do item anterior.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: Dor no local da aplicação das vacinas. Dor no local do braço em que o sangue será coletado.

5 – Benefícios para o participante: Entendendo melhor a doença e seus mecanismos, podemos tentar encontrar um tratamento mais eficiente para reduzir o número de infecções.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar: Não há.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o *Dra. Cristina Kokron* com auxílio da *Dra Ana Karolina Barreto de Oliveira* que podem ser encontrada no endereço *Av Dr Eneas de Carvalho Aguiar, 155, 5º andar bloco 4B* Telefone(s) .3069-6098. Se você tiver alguma consideração ou

dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “: Avaliação da resposta antígeno-específica em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável após administração de antígenos protéicos e polissacarídicos.

Eu discuti com a Dra. **Cristina Maria Kokron** e/ou **Dra Ana Karolina Barreto de Oliveira** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou

claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

Anexo B. Score para avaliação clínica em pacientes com ICV

	Pontos		1	2	3	4	5
Laboratório	IgG (mg/dl)	>600	350-599		150-349		0-149
	IgA(mg/dl)	nl			reduzido		≤10
	IgM(mg/dl)	nl			reduzido		≤15
	Ac contra influenza	proteção					Não proteção
	Ac contra pneumococo	Proteção (>5/12 sorotipos)			Reduzido 2-5		Ausência 0-1
	Ac contra hepatiteB	proteção					
História Clínica	Episódios pneumonia	nenhum	1	2	3	4	5 ou mais
	IVAS(excluindo pneumonia)	não	1	2	3		>3
	Uso de Antibiótico/ano	não	1	2	3	4	5 ou mais ou profilático
	Autoimunidade	não			presente		
	Sepse/meningite/osteomielite	não					presente
	Espelnomegalia ou esplenectomia	não			presente		
	Linfadenopatia	não			presente		
	Diarréia crônica	não			presente		
	Malabsorção	não			presente		
	Gastroenterite crônica	não			presente		
	Perda peso				presente		
	Hospitalizações nos últimos 5 anos		1	2	3	4	5 ou mais
Alterações radiológicas	Bronquiectasias na CT tórax	não					presente

Fonte – Yarmohammadi H e col., 2008

Anexo C. Score clínico pré reposição de gamaglobulina

Pacientes	Amigdalites	Sinusites	Pneumonias	OMA	IVAS	Sepse, meningite	ATB	ATB profilático	diarréia	Hospitalizaç ões	BQ	Total
1	1	5	5	0	5	0	8	5	5	0	5	39
2	2	5	5	0	5	0	10	5	5	0	5	42
3	1	5	5	1	5	0	10	5	5	3	5	45
4	0	5	2	0	5	0	5	5	0	2	5	29
5	1	3	1	0	5	1	5	5	0	5	0	26
6	0	2	1	0	1	0	3	5	0	0	5	17
7	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3
8	0	5	3	0	5	0	3	5	0	0	5	26
9	1	5	3	3	5	0	5	5	0	0	5	32
10	1	5	1	1	5	0	5	5	0	0	0	23
11	0	5	5	1	5	0	5	5	5	3	5	39
12	0	2	5	0	5	0	5	5	0	0	0	22
13	0	5	5	1	5	0	5	5	0	0	5	31
14	0	5	0	0	3	0	5	5	0	2	0	20
15	5	5	5	1	5	0	5	5	0	2	0	33
16	1	5	3	0	5	0	5	5	5	2	5	36
17	0	2	2	0	1	0	2	0	0	0	0	7
18	3	5	5	2	5	5	5	5	0	1	5	41
19	0	1	0	0	2	0	2	0	0	0	0	5
20	0	5	1	0	5	0	5	5	0	0	0	21
21	0	2	2	0	3	0	3	0	0	0	0	10
22	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	5	17
23	0	3	2	0	5	0	5	5	5	0	0	25
24	1	5	1	0	5	0	5	5	5	0	5	32

25	0	1	0	0	4	0	1	0	0	0	0	6
26	1	5	5	0	5	0	10	5	0	1	5	37
27	0	2	0	0	5	0	2	0	0	0	0	9
28	1	5	1	0	5	0	5	5	5	2	5	34
29	0	2	0	0	5	0	5	5	5	2	0	24
30	0	5	5	1	5	0	5	5	5	2	5	38
31	2	5	1	0	5	0	5	5	0	1	5	29
32	2	5	5	2	5	5	5	5	5	5	5	49
33	5	5	2	0	5	0	5	5	0	2	5	34
34	1	3	1	0	5	0	5	5	0	2	0	22
35	1	5	5	1	5	0	5	5	5	0	5	37
36	1	1	0	0	1	0	3	0	0	0	0	6
37	0	2	2	2	5	0	5	0	0	1	5	22

Anexo D. Score clínico pós reposição de gamaglobulina e pré administração das vacinas

Pacientes	Amigdalites	Sinusites	Pneumonias	OMA	IVAS	Sepse, meningite	ATB	ATB profilático	diarréia	Hospitalizações	BQ	Total Pós gama
1	0	3	0	0	3	0	2	5	5	0	5	23
2	0	2	0	0	2	0	3	5	0	0	5	17
3	0	3	2	0	2	0	5	5	0	0	5	22
4	0	3	0	0	3	0	5	5	0	0	5	21
5	0	2	0	0	2	0	3	5	0	3	0	15
6	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	4
7	0	2	0	0	2	0	4	5	5	0	5	23
8	0	2	1	0	3	0	4	5	0	0	0	15
9	2	5	5	4	5	0	5	5	3	3	5	42
10	0	5	1	0	5	0	5	5	5	0	0	26
11	0	3	1	0	3	0	3	5	0	0	5	20
12	0	1	0	0	1	0	1	5	0	0	0	8
13	0	3	2	0	3	0	3	5	0	0	5	21
14	1	5	2	0	5	0	5	5	5	1	5	34
15	0	3	2	0	3	0	4	5	0	0	0	17
16	0	5	5	0	5	0	5	5	5	1	5	36
17	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	3
18	0	2	3	0	3	0	5	5	5	0	5	28
19	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	4
20	0	0	0	0	3	0	2	0	0	0	0	5
21	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	4
22	0	3	2	0	5	0	5	5	0	0	5	25
23	1	3	0	1	3	0	5	5	5	0	5	28

24	1	3	1	0	3	0	4	0	5	0	0	17
25	0	1	0	0	3	0	2	0	0	0	0	6
26	0	2	0	0	2	0	2	5	0	0	5	16
27	0	2	0	0	2	0	1	0	0	0	0	5
28	0	0	0	0	3	0	4	5	5	0	0	17
29	0	1	0	0	2	0	1	5	5	1	0	15
30	0	5	0	0	5	0	5	5	5	1	5	31
31	0	0	0	0	3	0	2	5	0	0	5	15
32	0	2	3	0	5	1	5	5	5	2	5	33
33	0	3	0	0	3	0	4	5	0	0	5	20
34	0	2	1	0	3	3	0	0	0	0	0	9
35	1	1	0	0	1	0	2	5	5	0	5	20
36	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
37	0	2	1	0	2	0	3	5	0	0	5	18

Anexo F. Score clínico após administração das vacinas

Pacientes	Amigdalites	Sinusites	Pneumonias	OMA	IVAS	Sepse, meningite	ATB	profilático	diarréia	Hospitalizaç ões	BQ	vacina
1	0	0	1	0	0	3	0	3	5	5	0	17
2	0	2	0	0	2	0	2	5	0	0	5	16
3	0	1	1	0	2	0	3	5	5	0	5	22
4	0	1	0	0	2	0	2	5	0	0	5	15
5	0	1	0	0	3	0	2	5	0	0	0	11
6	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
7	0	1	0	0	2	0	2	5	0	0	5	15
8	0	1	0	0	1	0	2	5	0	0	0	9
9	0	1	0	0	1	0	2	5	0	0	0	9
10	0	3	0	0	3	0	4	5	0	0	5	20
11	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	5	8
12	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
13	0	2	0	0	3	0	2	5	0	0	5	17
14	0	1	0	0	1	0	2	0	5	0	0	9
15	0	1	0	0	2	0	1	5	5	0	5	19
16	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
17	0	2	0	0	3	0	2	5	0	0	5	17
18	0	3	0	0	1	0	3	5	0	0	0	12
19	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	4
20	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
21	0	2	1	0	1	0	2	0	0	0	0	6
22	0	0	0	0	2	0	1	5	0	0	5	13
23	0	1	0	0	2	0	3	5	5	0	5	21
24	0	1	0	0	2	0	2	0	5	0	0	10
25	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2

26	0	2	0	0	2	0	2	5	0	0	5	16
27	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3
28	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
29	0	0	0	0	1	0	2	5	5	0	0	13
30	0	5	0	0	2	0	5	5	5	1	5	28
31	0	0	0	0	2	0	1	5	0	0	5	13
32	0	1	3	0	1	0	4	5	0	1	5	20
33	0	2	0	0	2	0	3	5	0	0	5	17
34	0	1	0	0	3	0	2	0	0	0	0	6
35	0	1	0	0	1	0	3	5	0	0	5	15
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	2	0	2	5	0	0	5	14

Anexo . Aprovação CAPPesq

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0460/06

Título: Avaliação da resposta celular à imunização anti-infecciosa de pacientes com Imunodeficiência Comum variável.

Pesquisador Responsável: Dra. Cristina Maria Kokron

Pesquisador Executante:

Departamento: Clínica Médica

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** **ad-referendum** em 02/08/2012, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

• Carta datada de 24.07.12 – Mudança de título do Subprojeto de Mestrado de: Avaliação do perfil de linfócitos T de memória e da resposta clínica dos pacientes portadores de ICV submetidos à vacinação com antígenos proteicos e polissacarídicos; para: Avaliação da resposta clínica e humoral dos pacientes portadores de ICV submetidos à vacinação com antígenos proteicos e polissacarídicos, da aluna Ana Karolina Barreto Berselli Marinho

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 02 de Agosto de 2012

PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
Fone: 55 11 2661-6442 ramais 16, 17, 18 e 20 - e-mail: cappesq@hcnet.usp.br