

TRIAGEM NEONATAL

Maria Aparecida de Oliveira Botelho¹

Carlos Augusto de Oliveira Botelho²

Triagem Neonatal é um grupo de testes realizados em recém-nascidos para detectar possíveis alterações genéticas, metabólicas, endócrinas e doenças hematológicas e infecciosas, o material biológico utilizado é sangue seco em papel filtro, o que possibilita a manutenção dos requisitos de qualidade e segurança e oferece um ganho pela facilidade de logística, este tipo de teste é exigido pelas leis dos estados e ou países como Brasil e EUA, realizado em bebês, como parte de programas nacionais e ou estaduais de saúde pública, e em serviços privados. Hoje, nos EUA todos os 50 estados oferecem serviços de triagem neonatal e praticamente todos (> 99%) dos mais de 4 milhões de bebês nascidos nos EUA a cada ano são diagnosticados para detectar a fenilcetonúria (PKU), hipotireoidismo congênito, galactosemia, e hemoglobinopatias.

No Brasil foi criado o (PNTN), Programa Nacional de Triagem Neonatal,(1) criado em 2002, e que atende todos os estados e o Distrito Federal, atendendo mais de 3 milhões de recém-nascidos por ano, seguindo um sistema de níveis que vai de um a três, sendo que o mais completo detecta a fenilcetonúria (PKU), hipotireoidismo congênito, hemoglobinopatias, e fibrose cística, alguns estados tem diferenciais de atendimento definidos em leis próprias, como hiperplasia adrenal congênita, toxoplasmose congênita, biotinidase entre outras patologias.

Esses programas têm se expandido rapidamente nos últimos dez anos devido aos avanços na ciência, na defesa do consumidor, e incentivos financeiros, como o apoio federal de testes falciforme. Nos EUA, a tendência é a maioria dos estados

¹ Mst em Ciências da Saúde (UNB), Especialista em biologia molecular (Inst. da Cabeça e Pescoço; Graduada em Farmácia - Bioquímica (UFG).

² Mst Prof. em Ciências da Saúde (UNB), Especialista em Histologia e Morfologia (UNIFESP) Graduado em Ciências Biológicas (UNIC).

gerirem os seus próprios programas de triagem neonatal, embora alguns programas sejam executados através de parcerias regionais com os outros, enquanto o Distrito de Columbia e Pensilvânia contratam laboratórios privados para realizarem seus testes. Existem serviços privados ligados as operadoras de planos de saúde que atendem triando até 20 patologias entre alterações genéticas, metabólicas, endócrinas e doenças hematológicas e infecciosas, sendo esse um dos maiores incentivos para a pesquisa e novas patologias agregadas aos programas..

ESPECTROMETRIA DE MASSA

Espectrometria de massa (MS /MS) tem sido fundamental para aumentar o número de doenças verificadas pelos programas de triagem neonatal. Em 1995, alguns laboratórios começaram a utilizar um método MS/MS desenvolvido por Millington e Chace e adaptado por Naylor para triagem neonatal (2-4). Baseado no sucesso destes programas, os recursos da Saúde e Administração de Serviços (HRSA) emitiu um relatório em 2005 do American College of Medical Genetics (ACMG) dando apoio a utilização de MS / MS em programas de triagem neonatal como um meio de expandir a capacidade de triagem e incluir mais alterações (5). Nos EUA, desde então, os programas estaduais têm acelerado a adoção de MS / MS, e hoje, todos os estados usam MS/MS para o perfil de pelo menos 31 distúrbios, ou até 50, dependendo do estado. No Brasil o primeiro que irá oferecer em um programa público de erros inatos do metabolismo é o Distrito Federal, sendo que três dos serviços referência, no Paraná, São Paulo e em Mato Grosso do Sul já dominam a técnica e tem aparelhagem para tal, mas só oferecem aos pacientes de forma privada, e existe no país mais dois serviços totalmente privados, um no Rio de Janeiro e outro no Rio Grande do Sul.

VISÃO GERAL DE ERROS INATOS DO METABOLISMO

Quando um bebê nasce com um distúrbio de metabolismo de aminoácidos, ela não tem ou produz níveis insuficientes de enzimas específicas necessárias para converter gordura em energia ou para a quebra dos aminoácidos. Neste último caso, como erros inatos do metabolismo (EIM) causam aminoacidopatias pelo acúmulo e, se detectada e tratada, pode melhorar a qualidade de vida do paciente. Por exemplo, as crianças com uma mutação de DNA específicos, falta a enzima fenilalanina hidroxilase e não pode metabolizar o aminoácido essencial, fenilalanina.

A espectrometria de massa, efetivamente é usada para detectar esta doença metabólica, conhecida como PKU, e muitos outros IEMS, incluindo aminoácidos, ácidos orgânicos, e distúrbios de oxidação dos ácidos graxos.

Triagem neonatal para doenças metabólicas começou em 1961, quando Robert Guthrie desenvolveu um simples, custo-benefício teste de triagem para PKU. O poder público rapidamente adotou o teste, e no final dos anos 1960, a prática de triagem para PKU se espalhou para quase todos os 50 estados e em alguns países em desenvolvimento. O número de IEMS incluídos no teste do pezinho foram gradativamente expandidos ao longo dos anos com o desenvolvimento de novos testes, incluindo alguns para o hipotireoidismo congênito primário, doença falciforme, aminoacidopatias, galactosemia, e algumas doenças infecciosas.

ERROS INATOS DO METABOLISMO: INCIDÊNCIA

O nascimento de um bebê com uma IEM não é um evento raro. Nos EUA, a incidência global de IEMS é estimada 1 em cada 4.000 nascidos vivos (6). A incidência e frequência de doenças individuais varia, no entanto, dependendo da composição racial e étnica da população e na medida em que programas de triagem estão disponíveis para ajudar os médicos a fazer um diagnóstico diferencial.

Os autores de um relatório ACMG projetado estimam a incidência de PKU nos EUA é de 1 em 12.000 nascidos vivos, com a incidência combinada de todos os aminoacidopatias e alta sendo 1 em 6000 (7). Não incluídos nestas estimativas as IEMS, tais como distúrbio ácido orgânico, alguns distúrbios do ciclo da uréia, acidemias lácticas congênitas que podem exigir análise de aminoácidos para o diagnóstico e monitorização do tratamento. A Tabela 1 apresenta as taxas de incidência de várias IEMS relatado em um estudo realizado na British Columbia, Canadá (8).

Tabela 1 Incidência de Erros Inatos do Metabolismo		
Tipo de erro inato	Incidência	
Doença envolvendo distúrbios de aminoácidos, ácidos orgânicos, acidose láctica primária, galactosemia, ou uma doença do ciclo da uréia	24 por 100.000 RN	1 em 4.200
Doença de depósito lisossômico	8 por 100.000 RN	1 em 12.500
Desordem Peroxissomal	Aproximadamente 3 to 4 por 100.000 RN	1 em 30.000
Doença da cadeia basal respiratória mitocondrial	Aproximadamente 3 por 100.000 RN	1 em 33.000
Doença de depósito de glicogênio	2.3 por 100.000 RN	1 em 43.000
Esta informação é baseada em um estudo realizado na British Columbia, Canadá, que estimou a taxa de incidência global de		

erros inatos do metabolismo em 70 por 100.000 nascidos vivos ou 1 em 1400 nascimentos. Os autores também sugerem que é difícil de gerar a incidência exata e os dados de prevalência por causa do sub-diagnóstico e ao fato de que alguns pacientes não apresentam sinais e sintomas da doença após o período de tempo do estudo (8).

O PROCEDIMENTO ANALÍTICO

Em termos simples, espectrômetros de massa são instrumentos analíticos para separar e quantificar os íons moleculares baseados em sua massa / carga (m/z). Como o nome indica os instrumentos de MS/MS geralmente consistem de dois espectrômetros de massa separados por uma câmara de reação ou célula de colisão, que detecta e quantifica compostos nos fluidos corporais e, portanto, ideal para triagem neonatal.

Logo após o nascimento, obtém-se o sangue periférico através da punção do calcanhar e coleta de gotas de sangue em papel filtro especial conhecido como cartão de Guthrie. Para a análise, o técnico pega um picote de 3 mm de sangue seco em papel filtro e, em seguida, esse sangue é eluído e ionizado por *electrospray*. Os íons são separados por carga no primeiro espectrômetro, selecionados por um programa de computador e passam para a câmara de colisão, onde são fragmentados. Os fragmentos passam para o segundo espectrômetro, onde são analisados e identificados de acordo com a sua massa.

UM QUADRO MAIS COMPLETO

O desenvolvimento e disseminação da tecnologia MS/MS para a triagem neonatal melhorou muito a detecção de IEMS. A Tabela 2 mostra a prevalência de distúrbios metabólicos identificadas por MS/MS com base em testes de mais de 2 milhões de recém-nascidos durante um período de 5 anos. De fato, os dados reportados em ambos os quadros 1 e 2 não estariam disponíveis sem o uso generalizado de MS/MS tecnologia através de programas de triagem neonatal.

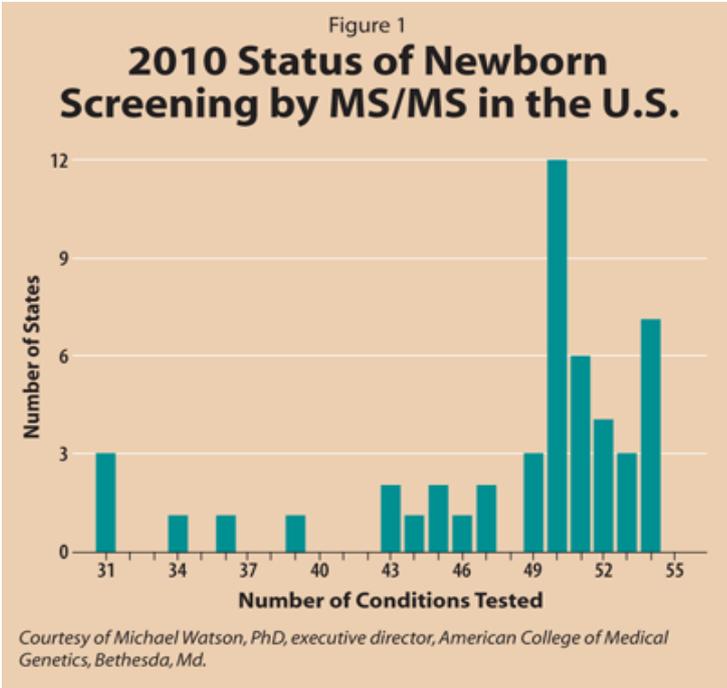
Tabela 2	
Prevalência de distúrbios metabólicos que podem ser identificados por MS/MS	
Desordem	Prevalência
MCADD	1/21,016
SCADD	1/38,255
MMA/PA	1/32,451
VLCADD	1/64,901
3-MCC	1/40/121
IVA	1/157,617
MSUD	1/110,332
PKU	1/40,121

Os dados são derivados de MS/MS testes de 2.206.640 recém-nascidos entre julho de 2005-junho de 2009 no programa de testes na Califórnia Genetic Disease (inédito).

Abreviaturas:
 MCADD- Deficiência de acil-CoA desidrogenase de cadeia média
 SCADD- Deficiência de acil-CoA desidrogenase de cadeia curta

MMA / PA- Acidemia propiônica(PA)
ou Acidemia metilmalônica(MMA)
VLCADD- Deficiência de acil-CoA desidrogenase de cadeia muito
longa
3-MCC - Deficiência de 3-metilcrotonil-CoA carboxilase
IVA- Acidemia isovalérica; MSUD- Doença da urina do xarope de
bordo
PKU- Fenilcetonúria

Hoje nos EUA, sete estados fazem a triagem de mais de 50 IEMS por MS/MS. Além disso, no ano passado, todos os estados que utilizam esta tecnologia selecionada para nada menos que 30 condições médicas (Figura 1). Em suma, MS/MS é uma tecnologia de baixo custo que permitiu triagem de alto volume simultânea de recém-nascidos para doenças metabólicas múltiplas, incluindo aminoacidopatias, distúrbios de oxidação dos ácidos graxos e distúrbios dos ácidos orgânicos.



ENFRENTANDO OS DESAFIOS

Embora a adoção desta tecnologia esteja sendo rápida e generalizada, muitos críticos de análises, laboratórios, devem observar certas questões de política que ainda precisam ser resolvidas. Estas questões incluem: desenvolvimento e aperfeiçoamento dos valores de analitos específicos de corte para minimizar falso-negativos/falso-positivos, desenvolvimento e adaptação de diretrizes em laboratórios de triagem neonatal para garantir a qualidade dos resultados comparáveis; melhoria da gestão de triagem neonatal dos programas para assegurar que eles estão colaborando com os laboratórios clínicos em encurtando os tempos de resposta e melhor comunicação entre os laboratórios clínicos, programas de triagem, e serviços públicos de acompanhamento, especialistas em doenças metabólicas e o atendimento primário para obter amostras e obter um diagnóstico definitivo o mais rapidamente possível.

Laboratórios de triagem neonatal configuram e operam MS/MS de diferentes maneiras, portanto, uma necessidade crítica para o campo é o desenvolvimento de um consenso sobre abordagens metodológicas. Isso também melhora a comparabilidade dos resultados entre laboratórios. Em um esforço para avançar para esse consenso, o Clinical and Laboratory Standards Institute publicou recentemente um conjunto de diretrizes, Triagem Neonatal por espectrometria de massa; diretrizes aprovadas (www.clsi.org).

Programas de triagem neonatal também precisam entender melhor a história natural variável e apresentações de crianças identificadas como potencialmente positivas para IEMS por MS/MS. Este desafio ressalta o fato de que a triagem neonatal bem sucedida exige um verdadeiro esforço de equipe, não só para identificar crianças em risco, mas também para garantir que essas crianças recebem uma avaliação de diagnóstico apropriado. Bebês diagnosticados requerem encaminhamento rápido para especialistas médicos para avaliação clínica e tratamento médico contínuo.

Talvez a questão mais crítica que os laboratórios enfrentam ha necessidade de valores bem desenvolvidos de corte. Revisões publicadas em larga escala programas de triagem neonatal que usam MS/ MS sugerem que os laboratórios clínicos devem prestar mais atenção ao desenvolvimento de cortes apropriados para muitos analitos. Resultados falso-positivos podem criar ansiedade extrema para os pais e muitas vezes exigem dispêndio de recursos limitados para coletar amostras de acompanhamento e realizar ensaios repetidos. Uma sugestão agora a ser discutida no campo é a criação de valores de corte diferentes para diferentes sub-populações de recém-nascidos.

Embora a adoção de MS/MS para a triagem neonatal claramente aumentou o número de IEMS avaliados rotineiramente, muitos governos enfrentam decisões políticas cruciais sobre a possibilidade de incluir certas doenças metabólicas raras detectáveis por MS/MS no programa de seu estado. O relatório de 2005 ACMG / HRSA recomenda que 29 condições possam ser incluídas em um painel de triagem para recém-nascidos. Os autores consideraram essas recomendações apropriadas para todos os programas de triagem neonatal, porque os testes de triagem e tratamentos eficazes existem, bem como um pouco de conhecimento substancial sobre sua história natural. Destas condições, a espectrometria de massa pode identificar 23, tornando-se a tecnologia dominante de programas de triagem neonatal.

MAIS DE EXPANSÃO?

Com a pressão da opinião pública e a montagem em serviços privados e programas estaduais de triagem neonatal para triagem de doenças congênitas são as razões, incluindo avanços na ciência, o desejo de diminuir a morbidade e mortalidade, e os esforços de marketing por parte do setor privado e outras forças. No entanto, outras questões estão em jogo além da capacidade de ponta da tecnologia MS/MS para detectar IEMS adicionais. Expansão dos programas de

triagem neonatal e a tecnologia MS/MS não dependem unicamente no desenvolvimento de conhecimentos de laboratório para coletar a amostra, operar o espectrômetro de massa, analisar os resultados e interpretar os dados. Outro fator crucial é a necessidade de formar uma equipe de saúde inteira para fazer o diagnóstico diferencial, definir um adequado follow-up, e entregar um tratamento médico adequado.

Dados precisos sobre o custo-efetividade não podem ser calculados, pois os dados sobre os volumes de testes definitivos estão faltando. Schulze e outros estimaram o custo por procedimento por MS/MS em US \$ 7,50 por teste. Eles utilizaram uma frequência observada de um em 4.100 recém-nascidos para calcular o custo para detectar uma criança afetada em \$ 30.750 dólares. Os autores corretamente sugerem que esse custo será rapidamente compensado pela redução em despesas médicas e hospitalares de aproximadamente US \$ 30.000 - \$ 40.000 por ano, ou em torno de US \$ 2.450.000 na vida de despesas médicas para um paciente pediátrico com uma EIM que não é diagnosticada precocemente e tratada (10). Isso para custos Brasil seria aproximadamente R\$ 48.000 - \$ 64.000 por ano, ou R\$ 3.920.000 na vida do afetado.

Outra análise realizada por pesquisadores canadenses em 2005 sugeriu que, para um programa de triagem MS/MS para ser eficaz, as doenças devem ser agrupados em um único pacote, no entanto, o rastreamento para todas as doenças possíveis no pacote não seria rentável. Estes pesquisadores sugeriram que o custo incremental de triagem por ano de vida ganho seria otimizado pela triagem para PKU e nove outras doenças (11).

Por outro lado, os avanços da tecnologia podem fazer ainda mais triagens para distúrbios viáveis. Para a triagem ampliada para tal ser custo-efetivo e clinicamente eficaz, no entanto, outros recursos serão necessários. Estes incluem os recursos para acompanhamento imediato, o tempo rápido de testes confirmatórios e tratamento especializado. Além disso, para reduzir a ansiedade das famílias com

crianças afetadas, laboratórios clínicos terão de operar tanto de forma eficiente e eficaz e ficar intimamente ligada com a unidade metabólica que trata a criança.

Com as inovações tecnológicas O futuro vem muito rápido e tudo indica na direção de tecnologias multiplex adicionais, tipo Luminex, incluindo testes de DNA que serão úteis em programas de triagem neonatal. Apesar de interpretar a associação entre um resultado positivo do DNA micro testes e apresentação clínica de uma criança será um desafio complexo, esperamos que essa tecnologia seja uma grande promessa para a detecção de erros inatos do metabolismo.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde, Cidadão, **Teste do Pezinho**, PNTN: Disponível online. Acessado em Julho1, 2011.
2. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: A new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. **J Inherit Metab Dis** 1990;13:321–324.
3. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. **Clin Chem** 2003;49:1797–1817.
4. Naylor EW, Chace DH. Automated tandem mass spectrometry for mass newborn screening for disorders in fatty acid, organic acid, and amino acid metabolism. **J Child Neur** 1999; 14: Suppl (1): S4–S8.
5. Health Resources Services Administration, Maternal Child Health Bureau. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System. 2005. Available online. Accessed July 30, 2010.

6. Wikipedia, Inborn errors of metabolism, Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Inborn_error_of_metabolism. Accessed on August 19, 2010.
7. American College of Medical Genetics, Technical standards and guidelines for amino acid analysis: draft for member comment. Available online. Accessed on August 19, 2010.
8. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Ped* 2000;(105)e10. Available online. Accessed on August 19, 2010.
9. U.S. Government Accountability Office, Newborn screening: Characteristics of state programs, March 2003; GAO-03-449. Available online. Accessed on August 19, 2010.
10. Schulze A, Linder M, Kohlmuller D, Olgemoller K, et al. **Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry**: results, outcome, and implications. *Peds* 2003;111:1399–1406.
11. Cipriano LE, Rugar CA, Zaric GS. **The cost effectiveness of expanding newborn screening for up to 21 inherited metabolism disorders using tandem mass spectrometry**: Results from a decision-analytic model. *Value in Health* 2007; 10:83–97.
12. Kotkin - Jaszi, Suzanne T, Sherwin John E. Newborn Screening The Tandem Mass Spectrometry Revolution: **Clinical Laboratory** News:Newborn Screening; June 2011: Volume 37, Number 6.