

Triagem neonatal de distúrbios metabólicos

Neonatal screening of metabolic disorders

Carolina F. Moura de Souza ¹

Ida Vanessa Schwartz ¹

Roberto Giugliani ²

Abstract *Several metabolic disorders which have early and severe manifestations may have their natural history significantly modified by the introduction of a treatment still on the pre-clinical phase. Pre-symptomatic diagnosis is only possible with the performance of screening tests in target populations, like newborns. The effort to perform a neonatal screening test should be done when a metabolic disorder fulfill the following criteria: 1) the disorders bring, if not treated, early and severe consequences to the health of the affected subject; 2) a treatment, which could substantially modify the natural history of the disease, is available; 3) the treatment is significantly more effective when introduced in the pre-clinical phase of the disease; 4) a laboratory test, which should be simple, efficient, low-cost and suitable for application in large scale, is available. With these conditions in mind, neonatal screening programs were initially introduced for phenylketonuria and congenital hypothyroidism, and presently are performed for the detection of a growing number of diseases. These programs are already well-established in developed countries, but their efficient application in developing countries is still a challenge.*

Key words *Neonatal screening, Inborn errors of metabolism, Phenylketonuria, Congenital hypothyroidism*

Resumo *Diversos distúrbios metabólicos que se manifestam de forma grave e precoce podem ter sua história natural substancialmente alterada pela introdução de um tratamento em sua fase pré-clínica. O diagnóstico pré-sintomático só é possível com a realização de testes de triagem populacional em recém-nascidos. O esforço para realizar um programa de triagem neonatal deve ser empreendido quando um distúrbio metabólico preenche os seguintes requisitos: 1) o distúrbio traz, se não tratado, conseqüências graves para a saúde do afetado; 2) existe um tratamento que pode modificar substancialmente a história natural da doença; 3) o tratamento é significativamente mais eficaz quando implantado na fase pré-clínica da doença; 4) existe um teste de triagem que seja simples, eficiente, aplicável em larga escala e de baixo custo. Baseados nessas premissas, programas de triagem neonatal foram inicialmente implantados para fenilcetonúria e hipotireoidismo congênito, e hoje estão sendo aplicados para um número crescente de situações. Esses programas já estão bem-consolidados nos países desenvolvidos, mas é ainda um desafio a sua eficiente aplicação nos países do Terceiro Mundo.*

Palavras-chave *Triagem neonatal, Erros inatos do metabolismo, Fenilcetonúria, Hipotireoidismo congênito*

¹ Serviço de Genética e Biologia Molecular e Genética Clínica Bioquímica do Hospital das Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcellos, 2.350 90035-003 Porto Alegre. rgiugliani@hcpa.ufrgs.br
² Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Introdução

A história natural das doenças pode, de uma maneira geral, ser dividida em dois períodos:

- Pré-sintomático (ou pré-clínico): o indivíduo não apresenta sinais e/ou sintomas da doença e, portanto, ainda não procurou atendimento médico. Neste período, pode estar sob a influência de fatores que predisõem ao desenvolvimento da doença (sejam eles genéticos e/ou ambientais). Para muitas doenças, a evolução para o período sintomático não é obrigatória, e esta pode não acontecer (ou acontecer em um período mais tardio) caso os fatores predisponentes sejam removidos.
- Sintomático: nesta fase, o indivíduo já apresenta sinais e/ou sintomas da doença. Se as manifestações clínicas forem inicialmente muito sutis, o indivíduo pode não perceber o seu “estado de doença” e/ou o médico pode não fazer o diagnóstico correto. Considerando as doenças de prognóstico mais reservado, o prognóstico costuma ser afetado, em maior ou menor escala, pelo tempo decorrido entre o início dos sintomas e a época em que o diagnóstico foi feito e o tratamento foi iniciado.

Uma vez que, independentemente da doença, parece ser sempre melhor identificar o paciente no período pré-sintomático e/ou sintomático inicial da sua doença, programas visando à prevenção e ao diagnóstico precoce de várias patologias deveriam ser alvo prioritário das políticas de saúde. A triagem populacional é uma das estratégias que podem ser utilizadas para tanto: em saúde pública, triar (ou rastrear) significa identificar, dentro de uma população considerada “normal”, aqueles indivíduos que estão em risco de desenvolver uma doença específica e que se beneficiariam de investigação adicional (para confirmar e/ou excluir este risco) e de ação preventiva/terapêutica imediatas (Wald, 1994). Um programa de triagem engloba não somente a realização dos testes necessários para a identificação dos “potenciais pacientes” (e a estrutura necessária para tanto), mas também a confirmação do seu diagnóstico e a efetivação do tratamento destes pacientes (Peckham & Dezateux, 1998), o que aumenta o custo da sua implantação e manutenção.

Portanto, como os recursos em saúde são escassos e os programas de triagem não estão isentos de riscos aos pacientes, a sua implantação justifica-se plenamente apenas para doenças graves, que são um problema de saúde pú-

blica e para as quais existem sólidas evidências de que a sua evolução é significativamente alterada pelo início precoce de tratamento (Peckham & Dezateux, 1998) (Quadro 1). A introdução de um programa de triagem não deve ser dirigida pela disponibilidade tecnológica, entusiasmo clínico ou demanda pública. Ela deve ser baseada na evidência de que o programa é realmente efetivo, tanto do ponto de vista científico quanto socioeconômico. As decisões relativas ao início, manutenção/implementação e término dos programas de triagem também devem ser feitas com base na revisão sistemática das evidências (Peckham & Dezateux, 1998).

Quanto às características de um teste de triagem populacional, cabe frisar que:

- não é um teste diagnóstico (e por este motivo é aceitável que tenha falsos-negativos, embora isto não seja desejável);
- deve ter alta sensibilidade e especificidade, embora possa estar associado (e geralmente está) a um grande número de falsos-positivos;
- não deve substituir a capacidade do médico em diagnosticar precocemente certas patologias. Uma boa anamnese e exame físico também podem ser considerados métodos não-invasivos de triagem.

Triagem neonatal

A triagem neonatal (TN) é um dos vários programas de triagem populacional existentes. Atualmente, é empregada tanto para o diagnóstico precoce (no período neonatal, ou seja, entre 0 a 28 dias de vida) de doenças genéticas – geralmente erros inatos do metabolismo – quanto de doenças infecciosas. Neste tipo de triagem (Schwartz *et al.*, 2000):

- os testes (qualitativos, semiquantitativos ou quantitativos) são realizados em amostras de sangue colhidas em papel filtro preferencialmente entre o 3^o e o 7^o dias de vida do recém-nascido (1^a amostra);
- os resultados alterados são confirmados através de testes mais específicos (em sua maioria quantitativos), preferencialmente realizados em amostras de soro, sangue total ou urina (2^a amostra);
- os casos confirmados são encaminhados para tratamento específico e/ou investigações adicionais em serviços de referência.

Como a TN é uma estratégia de prevenção (aqui entendida como prevenção do óbito e/ou de incapacidade, ou melhora da qualidade de

Quadro 1

Características necessárias a um programa de triagem populacional (adaptado de National Screening Committee, 1998).

A doença deve	<ul style="list-style-type: none"> - ser um problema importante de saúde pública; - ter a sua história natural bem entendida; - ser passível de diagnóstico no período pré-sintomático ou sintomático inicial.
O teste deve	<ul style="list-style-type: none"> - ser simples, seguro, confiável, barato e aceitável pelas pessoas que serão triadas; - associar-se a valores bem estabelecidos e que separem claramente os indivíduos “em risco” daqueles “sem risco” (pontos-de-corte); - ser sucedido, nos casos positivos, pela investigação diagnóstica; - associar-se a um risco de causar danos físicos e/ou psicológicos às pessoas triadas menor do que a chance de que elas sejam beneficiadas pela triagem.
O tratamento deve	<ul style="list-style-type: none"> - ser efetivo; - associar-se a um melhor prognóstico caso seja iniciado em período assintomático ou sintomático inicial da doença.
O programa de triagem deve	<ul style="list-style-type: none"> - ser clinicamente, socialmente e eticamente aceitável; - associar-se a acesso igualitário; - ser custo-efetivo; - possuir estrutura de suporte que garanta e que controle a sua qualidade.

vida) de doenças genéticas que age sobre o fenótipo e não sobre o genótipo (Khoury, 1997), não carrega consigo as conotações eugênicas associadas, por exemplo, ao diagnóstico pré-natal. Isto certamente faz com que ela seja bem aceita pela população em geral. Chamamos a atenção, entretanto, para o fato de que muitas vezes os heterozigotos normais são também identificados (isto ocorre na triagem para anemia falciforme), e de que a triagem para uma doença pode, eventualmente, também identificar indivíduos com doenças que não fazem parte dos programas de triagem e/ou que não preenchem os critérios necessários para serem triadas (a triagem para anemia falciforme, por exemplo, permite a identificação de portadores de outras hemoglobinopatias). Como qualquer método de rastreio, a TN acaba também por colocar sob suspeita crianças que, na realidade, são “normais” (falsos-positivos). A ansiedade gerada por um resultado alterado (na maioria das vezes falsamente alterado) é uma complicação que deve ser levada em consideração quando da implantação e/ou análise de um programa de TN (Ashton-Prolla *et al.*, 2001). Este tipo de dano psicológico poderia ser diminuído pela informação: todos os pais deveriam ser informados, antes da coleta da TN, sobre as doenças que estão sendo pesquisadas, sobre a chance de ocorrência de falsos-negativos e falsos-positivos, e sobre a eventual necessidade de coleta de amostra de sangue do recém-nascido (RN).

Os pontos acima levantados, embora importantes, não são freqüentemente discutidos. Em países do Primeiro Mundo, as discussões acerca da necessidade e importância dos programas de triagem neonatal já estão ultrapassadas; também parece existir uma tendência para a triagem de um número cada vez maior de doenças, principalmente após o advento do espectrômetro de massa *in tandem*, um aparelho que permite o diagnóstico de aproximadamente 30 doenças metabólicas a partir de uma única gota de sangue e de um único teste (Sansom, 1999). Em países do Terceiro Mundo, entretanto, permanece uma questão mais básica: uma vez que as doenças metabólicas são raras e que os recursos disponíveis são escassos, os programas de triagem neonatal devem ou não devem ser implantados?

Triagem neonatal no Brasil

Assim como aconteceu em outros países em desenvolvimento, a introdução dos programas de triagem no Brasil ocorreu de forma desorganizada, sem estrutura de controle da qualidade e precedeu a discussão ética em torno do assunto. A primeira doença a ser triada foi a fenilcetonúria, a partir de um trabalho pioneiro da APAE/SP, em 1976. Atualmente, a TN pode ser feita tanto em laboratórios privados (cujos programas podem diagnosticar aproximada-

mente 30 doenças metabólicas) ou pelo sistema público (dependendo do estado, podem ser diagnosticadas até 4 grupos de doenças: hipotireoidismo congênito, hiperfenilalaninemias, hemoglobinopatias e fibrose cística).

Embora o próprio Estatuto da Criança e do Adolescente faça referência à obrigatoriedade do “teste do pezinho”, dados extra-oficiais do Ministério da Saúde indicam que entre um terço e metade dos cerca de 3.000.000 RNs brasileiros não realizaram este teste no ano 2000 (alguns RNs podem ter realizado o teste em laboratórios privados que não informam seus dados para as estatísticas oficiais). Além da falta de cobertura, também existia a falta de um sistema de controle de qualidade, fundamental para a análise de outras variáveis importantes na otimização de um programa de triagem neonatal: idade de coleta da primeira amostra, tempo decorrido entre a coleta e a entrada do material no laboratório, tempo decorrido entre a entrada do material no laboratório e a comunicação do resultado aos pais, idade de início do tratamento etc...

Em 2001, ciente da necessidade de se fazer cumprir a lei de maneira adequada, o Ministério da Saúde editou uma portaria (portaria nº 822) visando à organização de uma rede de triagem neonatal no Brasil, com aumento do número de exames cobertos pelo Sistema Único de Saúde. De acordo com esta portaria, o pagamento da TN pelo Governo Federal estaria vinculado à organização de redes de coleta, diagnóstico e tratamento; somente os estados com cobertura maior de 50% poderão realizar triagem para hemoglobinopatias e com cobertura maior de 70% para fibrose cística (os estados com cobertura inferior podem triar para o hipotireoidismo congênito e fenilcetonúria).

A seguir apresentamos as principais condições metabólicas passíveis de serem testadas através do teste do pezinho, algumas destas disponíveis somente em laboratórios privados e outras já regulamentadas pelo SUS.

Condições que preenchem todos os critérios para serem incluídos em programas de triagem neonatal

Hiperfenilalaninemias

As hiperfenilalaninemias resultam de uma variedade de condições. A deficiência genética primária da enzima fenilalanina hidroxilase

(PAH), que catalisa a conversão da fenilalanina em tirosina e que em sua forma mais grave é responsável pela fenilcetonúria (PKU) clássica, é o erro inato do metabolismo autossômico recessivo mais comum e a principal causa de hiperfenilalaninemia. A deficiência na síntese ou na regeneração do cofator para o funcionamento da enzima PAH, a tetrahidrobiopterina (BH_4), também pode ser encontrada nos casos de hiperfenilalaninemia. As principais causas secundárias da elevação da fenilalanina incluem a prematuridade, doença renal ou hepática e o uso de medicações (trimetopim, agentes quimioterápicos). Sabe-se que o acúmulo progressivo do aminoácido fenilalanina e seus metabólitos no sangue e outros tecidos causa dano progressivo ao cérebro em desenvolvimento, resultando em retardo mental, epilepsia, espasticidade, eczemas e distúrbios psiquiátricos. Uma triagem precoce, permitindo o diagnóstico e o tratamento o quanto antes (idealmente ainda no primeiro mês de vida), previne e evita essas graves consequências.

Apesar da PKU ser uma doença pan-étnica, sua frequência é marcadamente diferente em grupos étnicos diversos, sendo mais comum no norte da Europa, especialmente na Irlanda, e rara entre negros africanos e japoneses (Clarke, 1996). Nos EUA, aproximadamente uma a cada 15.000 crianças nasce com essa deficiência. No Brasil os dados estatísticos são incompletos visto que a triagem não ocorre uniformemente em todos os estados. A estimativa, baseada em um estudo realizado no Rio Grande do Sul (Jardim *et al.*, 1992), indica uma prevalência de um caso para cada 12.000 nascidos vivos.

A detecção de uma hiperfenilalaninemia deve sempre ser confirmada através de métodos quantitativos. Após a exclusão da deficiência de BH_4 , valores acima de 10mg (600 $\mu\text{mol/l}$) são compatíveis com PKU. Contudo, valores entre 6-10mg (360-600 $\mu\text{mol/l}$) são definidos como hiperfenilalaninemia persistente benigna, que não requer tratamento. Neste último caso, as mulheres devem ser monitoradas para, quando na idade fértil, manter os níveis máximos de 6mg durante a gestação no sentido de evitar danos ao feto (microcefalia, retardo mental, cardiopatia) devido ao efeito teratogênico da fenilalanina (PKU materna).

No momento em que é estabelecido o diagnóstico, o tratamento, que consiste basicamente em uma dieta restrita em fenilalanina, deve ser iniciado o mais rapidamente possível, proporcionando um controle metabólico adequa-

do e um desenvolvimento físico e psicomotor dentro dos limites da normalidade. Com a possibilidade de um tratamento comprovadamente eficaz e de uma relação custo-benefício favorável, a triagem neonatal para esta doença tornou-se obrigatória em todos os países desenvolvidos e em muitos países em desenvolvimento. No Brasil, o rastreamento para a PKU cobre cerca de 50% dos RNs.

Na maioria dos países, a coleta de sangue é realizada em papel filtro nos primeiros dias de vida, idealmente entre o 3^o e o 7^o dia de vida, independentemente da história de prematuridade, alimentação recebida, uso de medicamentos ou internação hospitalar (Committee on Genetics, 1996). A amostra é analisada, geralmente por métodos qualitativos, e, na presença de níveis elevados de fenilalanina, o resultado é confirmado em uma segunda amostra, normalmente através da dosagem quantitativa. Após o diagnóstico, os pacientes são encaminhados a um serviço de saúde especializado que irá iniciar o tratamento e realizar seguimento conforme protocolos bem estabelecidos.

As metodologias laboratoriais utilizadas na triagem e no diagnóstico da PKU são variáveis de um local para outro. Os métodos qualitativos (ou semiquantitativos são): o Teste de Guthrie, em que um pequeno disco de papel com sangue contendo excesso do aminoácido fenilalanina provoca a inibição do crescimento da bactéria *Bacillus subtilis* em um meio de cultura; e a cromatografia de aminoácidos em camada delgada, que permite identificar, além do aumento de fenilalanina, o aumento de outros aminoácidos (e assim detectar simultaneamente outros distúrbios metabólicos). Os métodos quantitativos são a análise fluorimétrica e a espectrometria de massa *in tandem*. As principais vantagens dos métodos qualitativos são o baixo custo e a simplicidade de realização. Já os métodos quantitativos possibilitam a automatização e têm a grande vantagem de ser mais sensíveis e específicos, ou seja, produzem menos casos falsos-positivos e negativos.

Uma triagem neonatal efetiva para PKU exige o funcionamento de um sistema integrado complexo e multidisciplinar, que se inicia pela coleta do exame no período adequado por um procedimento correto, inclui o transporte, a análise laboratorial, e fornece o resultado em um tempo razoável, permitindo a localização e contato com as famílias dos casos com resultado alterado para a confirmação diagnóstica e o manejo dos casos em prazo hábil. A equipe

multidisciplinar deve incluir médico geneticista, psicólogo, enfermeiro, nutricionista e assistente social. Em nosso país, a falta de uma estrutura de saúde que contemple todos esses passos permite disponibilizar apenas em algumas capitais programas efetivos diagnóstico e tratamento de PKU.

Hipotireoidismo congênito

Similarmente à PKU, o hipotireoidismo congênito (HC) tornou-se um alvo dos programas de triagem por preencher todos os critérios preconizados para o rastreio neonatal de doenças metabólicas. O HC ocorre em crianças que nascem com a incapacidade de produzir quantidades normais de hormônio da tireóide, o qual é essencial para o crescimento físico e neurológico normal. A principal causa do HC é a falência parcial ou total do desenvolvimento da glândula tireóide (aplasia ou hipoplasia), ou a sua localização ectópica. Não há etiologia genética estabelecida, e raramente ocorre em irmãos. Mais raramente, o HC resulta de um erro inato do metabolismo que afeta a produção dos hormônios da tireóide, do uso de medicações durante a gestação (iodo, drogas anti-tireoidéias) ou da presença de anticorpos maternos. Em alguns casos, sinais e sintomas como icterícia neonatal prolongada, constipação, letargia, dificuldades alimentares, tônus muscular diminuído, pele seca, língua protusa, abdômen distendido com ou sem hérnia umbilical podem estar presentes desde os primeiros dias de vida. Porém a maioria dos neonatos com HC é geralmente assintomática até o terceiro mês de vida, mesmo com o dano cerebral já está ocorrendo progressivamente. Crianças não tratadas precocemente são acometidas de retardo mental de graus variáveis, retardo de crescimento, surdez e outros sintomas metabólicos graves (Gruters, 1992).

A frequência estimada do HC é de 1 para cada 3.600 a 5.000 nascidos vivos. Segundo dados do Centro de Triagem neonatal de Porto Alegre de dezembro de 2000, a frequência em nosso meio é estimada em 1 caso para 3.500 recém-nascidos.

O teste inicial é a dosagem de hormônio tireo-estimulante (TSH) em papel filtro pela técnica de radioimunoensaio, imunoradiometria, fluorimetria ou imunofluorescência. Contudo, alguns laboratórios preferem realizar a dosagem de tiroxina (T_4). O teste não é influenciado pelo tipo de alimentação recebida

durante o período neonatal. Os programas que testam apenas a T_4 apresentam 10% de casos falsos-negativos, enquanto a dosagem de TSH nas primeiras 48 horas pode levar a um aumento de casos falsos-positivos (Willi & Moshabg, 1991). Em nosso meio, isto é contornado, pois a maioria dos neonatos coleta o teste do pezinho após o 3º dia de vida. Dosagens de TSH acima de 50 mU/mL são consideradas altamente suspeitas de HC. Após a repetição do exame em plasma, deve-se iniciar o tratamento o mais cedo possível com administração oral de T_4 . O paciente deve seguir acompanhamento clínico com um endocrinologista, além de seguimento laboratorial com objetivo de manter os níveis de TSH inferiores a 4 μ U/mL. Também como no caso da PKU, a triagem para HC é realizada em apenas cerca da metade dos RNs brasileiros.

Doenças habitualmente triadas mesmo sem preencher todos os critérios de indicação

Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias são doenças que acometem a estrutura ou/e a taxa de produção da molécula de hemoglobina, presente nos glóbulos vermelhos e responsável pelo transporte de oxigênio para os tecidos. A anemia falciforme (AF) é a hemoglobinopatia mais freqüente no nosso país, atingindo cerca de 0,1-0,3% da população de negros (Silla, 1999). No Brasil, a alta taxa de miscigenação difundiu a doença em praticamente todos os grupos populacionais. Estima-se em 4 milhões o número de portadores do traço falciforme (heterozigotos) e mais de 30.000 portadores ou afetados por outras formas de hemoglobinopatias (Bandeira *et al.*, 1999). As crianças com anemia falciforme produzem hemoglobina S e não a hemoglobina A, sendo altamente suscetíveis à anemia hemolítica, infecções recorrentes, obstrução de pequenos vasos, que causam dor e comprometem o funcionamento de órgãos e tecidos.

O diagnóstico precoce destas patologias é simples e de baixo custo. A metodologia empregada é a focalização isoeétrica ou a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). A confirmação é realizada, geralmente, por eletroforese de hemoglobina em amostra de sangue total.

Alguns estudos têm demonstrado que o manejo precoce da AF, mesmo em indivíduos assintomáticos, melhora a morbimortalidade

relacionada às complicações desta patologia (Silla, 1999; Shafer *et al.*, 1996). A principal questão, contudo, é a alta taxa de heterozigotos detectados com elevado custo de seguimento com efeitos do aconselhamento genético ainda não bem estabelecidos (Bruist & Tuerck, 1992).

Hiperplasia adrenal congênita

A hiperplasia adrenal congênita (HAC) ocorre devido a um defeito genético que leva a um bloqueio de algum passo da rota metabólica envolvida na síntese do cortisol e dos mineralocorticóides. Em consequência, a hipófise passa a produzir grandes quantidades de ACTH, estimulando exageradamente a glândula adrenal e induzindo a formação de precursores esteróides com ação virilizante. A deficiência mais comum, herdada de modo autossômica recessiva, é a da enzima 21-hidroxilase, responsável por mais de 90% dos casos reconhecidos. A sua incidência, bastante variável entre as populações, é estimada em 1 caso para 12.000 nascidos vivos (Pang e Clark, 1993).

Meninos com HAC geralmente se apresentam normais ao nascimento. Meninas apresentam os efeitos virilizantes que podem variar de uma forma leve a grave, ou seja, presença de estrutura peniana e hipospádia. Em 2/3 dos casos, ocorre a forma clássica da doença, com desequilíbrio hidro-eletrolítico (perda de sal) que acomete tanto meninos quanto meninas e cujos sintomas iniciam nas duas primeiras semanas de vida, levando a graves consequências clínicas e ao óbito se não tratada a tempo.

O teste utilizado na triagem da HAC é a dosagem, da 17-hidroxiprogesterona, precursora do colesterol. Há possibilidade de resultado falso-positivo quando o teste é realizado nas primeiras 48 horas de vida ou em recém-nascidos prematuros e/ou baixo peso. Um teste negativo, por sua vez, não exclui a possibilidade de deficiências enzimáticas mais raras relacionadas à HAC (Hoffmann, 2002).

Consideramos importante lembrar que a grande maioria dos pacientes acometidos por HAC apresenta sintomatologia clínica antes mesmo do resultado da triagem neonatal, visto que o tempo hábil para a coleta e resultado do exame ainda é longo em nosso meio, e que a manifestação clínica da forma perdedora de sal é precoce. Mesmo com um quadro clínico instalado, o diagnóstico na maioria dos casos só é realizado quando chega o resultado do teste de triagem neonatal.

Fibrose cística

A fibrose cística (FC) é a doença autossômica recessiva de elevada prevalência nas populações de origem européia, caracterizada por uma disfunção crônica e grave dos pulmões e trato gastrointestinal devido a um distúrbio no transporte de cloreto pelas membranas epiteliais. A frequência dessa patologia na população do sul do Brasil é de 1 para 2.500 nascidos vivos.

O rastreamento neonatal para FC tem sido um assunto de discussão e um dilema na comunidade médica dos últimos 10 anos. O teste atualmente utilizado é o da tripsina imunorreativa (IRT), seguido da análise da mutação delta F508 nos casos com níveis de IRT elevados. O índice de falsos-positivos pela dosagem de IRT tem se mostrado alto (5 a 10%). Os falsos-negativos estão associados à presença de íleo-mecônial e ao tempo de vida do RN, visto que os valores de IRT tendem a cair após a terceira semana de vida (Neto *et al.*, 1998; Neto *et al.*, 1999).

Considerando que em somente de 1 a 2% dos casos com testes positivos o diagnóstico será confirmado, os falsos-positivos trazem consequências pelo receio de uma doença fatal, sem tratamento específico. Diversos autores defendem que o diagnóstico precoce reduz a morbimortalidade relacionada à doença, enquanto outros dizem que esta doença não preenche os critérios para a realização do rastreio (Vaz-Osório *et al.*, 1999; Merelle, 2001).

Galactosemia

É um erro inato do metabolismo dos carboidratos relacionado à deficiência enzimática na rota da metabolização da galactose, que passa a ter níveis circulantes elevados, tóxicos principalmente para o fígado, cérebro e olhos. Na galactosemia clássica, causada pela deficiência da enzima galactose 1-fosfato uridiltransferase (GALT), a galactose-1-fosfato também se acumula. Após a ingestão de leite contendo lactose, neonatos afetados por galactosemia passam a apresentar vômitos, diarreia, icterícia, podendo evoluir para falência hepática e renal, muitas vezes com quadro de sepse por germe gram negativo. As manifestações clínicas iniciam na primeira ou segunda semana de vida e os casos não tratados precocemente evoluem precocemente para o óbito. A exclusão da galactose da dieta é essencial para reverter ou prevenir as manifestações agudas da doença, porém as

complicações tardias como a falência ovariana, o atraso na linguagem e desenvolvimento psicomotor parecem ocorrer mesmo na presença de um adequado controle metabólico (Waggoner, 1990).

A incidência de galactosemia clássica nos programas de triagem neonatal dos EUA é de 1 caso para 55.000 a 80.000. Falsos-negativos podem ser observados após transfusão de sangue.

Os testes de triagem em nosso meio detectam a presença de galactose e de galactose 1-fosfato através de métodos bacteriológicos e fluorimétricos. A confirmação diagnóstica deve ser feita através da medida da atividade das enzimas GALT, galactosquinase e galactose-epimerase. A maioria das crianças com níveis elevados de galactose no teste de triagem apresenta uma deficiência leve de GALT e não necessita de tratamento específico. Nestas crianças a elevação da galactose e da galactose-1-P desaparece após algumas semanas ou meses de vida, mesmo com dieta normal (Hoffmann, 2002).

Deficiência de biotinidase

A biotinidase é uma enzima necessária para o aproveitamento da biotina, coenzima presente em muitos alimentos e necessária para a atividade de algumas carboxilases mitocondriais. A deficiência desta enzima provoca a deficiência de múltiplas carboxilases e um quadro clínico grave de descompensação metabólica. O tempo de aparecimento dos sintomas pode variar de poucas semanas a até 10 anos de vida. No período neonatal, os sintomas vão desde erupções cutâneas, alopecia, acidose metabólica até crises convulsivas de difícil controle. Com a progressão da doença, se instala o retardo mental. O tratamento, que pode evitar grande parte dos sintomas, é bastante simples e consiste na administração oral de baixas doses de biotina (Hoffmann, 2002).

A frequência desta patologia nos EUA está em torno de 1/72.000 a 126.000 nascimentos.

Os testes de triagem realizam a medida da biotinidase no papel filtro através de métodos colorimétricos semiquantitativos e devem ser confirmados com a medida da enzima no plasma. O teste não é influenciado pelo tempo de vida do RN nem pelo tipo de alimentação recebida durante o período neonatal, nem pelo eventual uso de biotina. Resultados falsos-negativos podem estar associados ao uso de sulfonamidas, à realização de transfusão de sangue e, eventualmente, à prematuridade.

A indicação da triagem neonatal para esta patologia é questionada, visto que a sua frequência populacional é baixa, mas o baixo custo e a simplicidade do teste têm recomendado a sua realização.

Deficiência de MCAD

A deficiência da desidrogenase da acil-CoA de cadeia média (MCAD) é a principal patologia relacionada com os defeitos da oxidação dos ácidos graxos, com frequência comparável à da PKU. As principais manifestações clínicas são os episódios de hipoglicemia que podem ser precipitados por um quadro de infecção ou jejum prolongado. Sabe-se que 1/3 das crianças manifestam os sintomas até o terceiro dia de vida e que 30% podem morrer no primeiro episódio. O tratamento consiste em evitar o jejum, reduzir as gorduras da dieta e suplementar carnitina.

Como mais de 98% dos alelos mutantes para essa doença contêm a mutação A985G (Bartlett, 1993), os programas de triagem neonatal no Brasil utilizam como método de rastreio da enfermidade a pesquisa pela técnica de PCR do DNA extraído do papel filtro. O teste não é influenciado pelo tempo de vida do RN, nem pelo tipo de alimentação recebida durante o período neonatal.

Nos programas dos países do Primeiro Mundo, na triagem é realizada a medida da octanoilcarnitina através da espectrometria de massa *in tandem*. Esta metodologia permite, também, a detecção de outros metabólitos relacionados aos defeitos da oxidação de ácidos graxos. Devido aos altos custos relacionados com esta tecnologia, discute-se, neste momento, o real benefício da triagem de patologias raras como estas (Bartlett, 1997).

Doenças infecciosas

No Brasil, e em alguns países desenvolvidos, os programas de triagem neonatal têm incluído, além dos testes para doenças metabólicas, a investigação de doenças infecto-contagiosas. A grande questão envolvida nestes testes é o elevado custo, a baixa sensibilidade e especificidade de algumas metodologias, ausência de tratamento para algumas condições e as questões éticas envolvidas, principalmente nos casos de detecção de portadores do vírus HIV.

A suscetibilidade às doenças infecciosas que causam defeitos congênitos (rubéola, toxoplasmose, CMV, AIDS, sífilis, Chagas) deveria, idealmente, ser monitorada nos períodos pré-concepcional e pré-natal para permitir medidas de prevenção e/ou tratamento precoce.

Conclusão

Já consolidada nos países desenvolvidos, a TN é também uma realidade no Brasil e em uma parcela considerável dos países do Terceiro Mundo. Nestes países, onde os serviços de saúde são marcados por dificuldades relacionadas com a carência de recursos, falta de estrutura organizada e necessidade de enfrentar simultaneamente múltiplos desafios, um esforço especial deve ser realizado para torná-la universal e ao mesmo tempo eficiente, com integração dos trabalhos realizados pelos laboratórios públicos e privados. Na rede pública, a TN deve ser oferecida para as doenças cuja detecção precoce se acompanha de relação custo-benefício comprovadamente favorável, como está bem estabelecido para o caso da PKU e do HC. A compreensão de que a triagem neonatal vai muito além do teste de triagem e que, para valer a pena, tem que contemplar todos os passos até a introdução em tempo hábil do tratamento adequado, que deve ter seguimento sistemático, é fundamental para que seus objetivos (prevenção das deficiências associadas às doenças) sejam efetivamente atingidos.

Referências bibliográficas

- Ashton-Prolla P, Schwartz IVD, Burin M, Giugliani R 2001. Estratégias de prevenção dos erros inatos do metabolismo, pp. 211-214. In Carakachunski G. *Doenças genéticas em pediatria*. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Bandeira FMC *et al.* 1999. Características de recém-nascidos portadores de hemoglobina "S" detectados através de triagem em sangue de cordão umbilical. *Journal of Pediatrics* 75 (3):167-171.
- Bartlett K 1993. Methods for the investigation of hypoglycaemia with particular reference to inherited disorders of mitochondrial β -oxidation. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism* 7:643-667.
- Bartlett K, Eaton SJ, Pourfarzam M 1997. New developments in neonatal screening. *Archives of Diseases in Childhood* 77:151-154.
- Bruist NM, Tuerck JM 1992. The practitioner's role in newborn screening. *Pediatrics Clinics of North Am.* 39 (2):199-211.
- Clarke JTR 1996. *A clinical guide to inherited metabolic disease*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Committee on Genetics 1996. Newborn Screening Facts Sheets. *Pediatrics* 98 (3): 473-501.
- Gruters A 1992. Congenital hypothyroidism. *Pediatrics Annals*, 21:15-21.
- Hoffmann GF, Nyhan W, Zschocke J, Kahaler S, Mayapetek E 2002. *Inherited Metabolic Diseases*. Ed Lippincott Williams & Wilkins, Filadélfia, 430pp.
- Jardim LB, Leite JCL, Silveira EL, Pereira ML, Giugliani R 1992. Resultados preliminares de um programa de detecção precoce para aminoacidopatias no Rio Grande do Sul. *Jornal de Pediatria* 68:189-242.
- National Screening Committee 1998. First report of the UK National Screening Committee. London: Department of Health.
- Khoury MJ 1997. Relation between medical genetics and public health: changing the paradigm of disease prevention and the definition of a genetic disease. *American Journal of Medical Genetics* 71:289-291.
- Merelle ME, Nagelkerke AF, Lees CM, Dezateux C 2001. Newborn screening for cystic fibrosis. *Cochrane Database System Review* 3: CD 001402.
- Neto EC *et al.* 1998. Importância da análise molecular da mutação DF508 no diagnóstico neonatal da fibrose cística. *LAES/HAES* 113:100-104.
- Neto EC, Schulte J, De Mari J, Lewis E 1999. A two-tier neonatal screening for cystic fibrosis. *Abstracts of the 4th Meeting of the International Society for Neonatal Screening*, p. 90.
- Pang S, Clark A 1993. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: newborn screening and its relationship to the diagnosis and treatment of disorder. *Screening* 2:105-139.
- Peckham CS, Dezateux C 1998. Issues underlying the evaluation of screening programmes. *Br. Med. Bull.* 54 (4):767-778.
- Sansom C 1999. Tandem mass spectrometry: the tool of choice for diagnosing inborn errors of metabolism. *Molecular Medicine Today*. 95.
- Schwartz IVD, Neto EC, Giugliani R 2000. Considerações sobre o momento da colheita da triagem neonatal. *Jornal de Pediatria* 76 (6):474-475.
- Shafer FE, Lorey F, Cunningham GC 1996. Newborn screening for sickle cell disease: 4 years of experience from California newborn screening program. *Journal of Pediatrics Hematology Oncology* 18(1):36-41.
- Silla LMR 1999. Doença falciforme: um grave e desconhecido problema de saúde pública no Brasil. *Journal of Pediatrics* 75 (3):145.
- Vaz-Osório R, *et al.* 1999. Programa Nacional de Diagnóstico Precoce. 20 anos de rastreio neonatal. *Arquivos de Medicina* 13(3):163-168.
- Waggoner DD, Buist NRM, Donnel GN 1990. Long term prognosis in galactosemia: results of survey of 350 cases. *Journal of Inherited Metabolic Diseases* 13:802-806.
- Wald NJ 1994. Guidance on terminology. *Journal Medical Screening* 1:76.
- Willi SM, Moshabgt T 1991. Diagnostic dilemmas. Result of screening tests for congenital hypothyroidism. *Pediatric Clinical of North America* 38:555-562.