



Projeto de Lei 7374/2014 – Ampliação do Teste de Guthrie (Teste do Pezinho)

Relator: Deputado Federal
Diego Garcia

Armando A. Fonseca
Pediatra e Patologista Clínico
presidencia@sbteim.org.br



SBTEIM

Sociedade Brasileira

Triagem Neonatal

Erros Inatos do Metabolismo



SBTEIM

Sociedade Brasileira

**Triagem Neonatal
Erros Inatos do Metabolismo**

www.sbteim.org.br

TRIAGEM NEONATAL ou TESTE DO PEZINHO





1934 – descrição da patologia e quadro clínico

Ivar Asbjørn Følling,
Médico e Fisiologista Norueguês.

TESTE DO CLORETO FÉRRICO EM URINA

History Of PKU

PKU was discovered by
Asbjørn Følling.

He tested urine of 10
mentally challenge patients
and it turned green.

He isolated phenylpyruvic acid from
the tested urine. He called this
disease "Imbecilitas phenil
pyruvica".

Treatment/Research:

The only solution, for now, is to keep a low
protein diet that must be carried out throughout
the whole life

Signs:
Children might have lighter
skin, hair, and eyes than
brothers and sisters

- Symptoms:
- delayed and mental social skills
 - head size significantly below normal
 - hyperactivity
 - jerking movements of the arms or legs
 - mental retardation
 - seizures
 - skin rashes
 - tremors

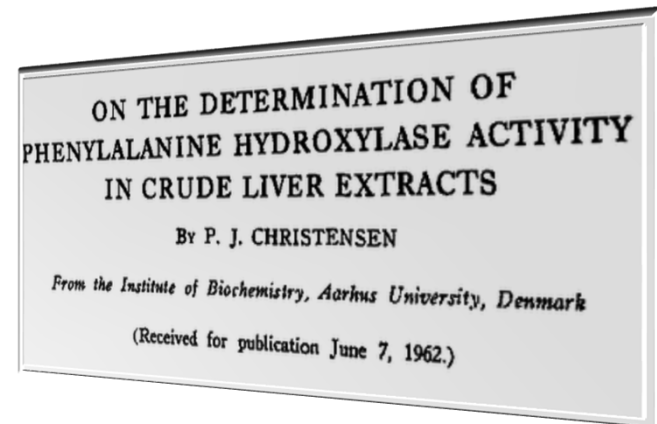


Asbjørn
Følling

TRIAGEM NEONATAL PARA EIM



1934 – descrição da patologia e clinica
Ivar Asbjørn Følling,



1938 – etiologia (defeito na
enzima)
Jervis,
Bioquímico dinamarquês



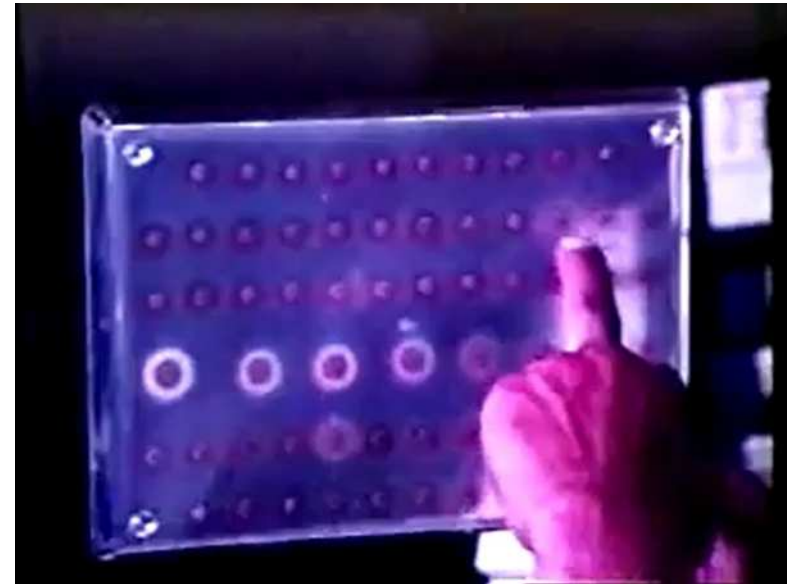
1951 – tratamento experimental - Pediatra Alemão
Horst Bickel

Teste de Guthrie



Photo: UB ARCHIVES

Published:
November, 1961 - Journal of the
American Medical Association
published a letter from **Robert
Guthrie**, UB professor of pediatrics
and microbiology, reporting on a new
test for early detection of
phenylketonuria (PKU).



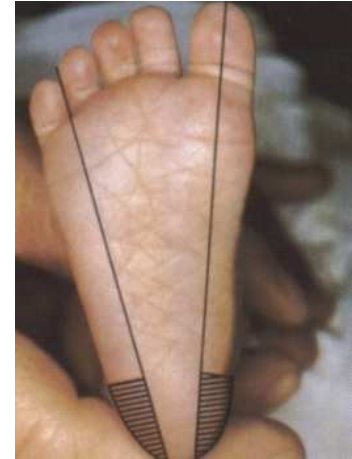


TRIAGEM NEONATAL PARA EIM



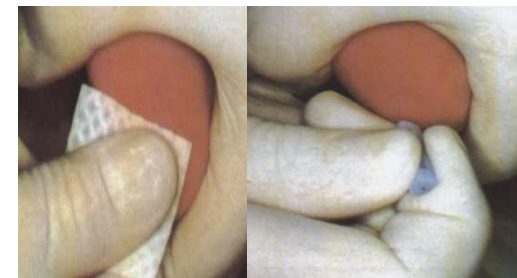
- A Triagem Neonatal proposta por Dr. Robert Guthrie em 1963.
- Um ensaio de inibição bacteriana realizado em amostras de sangue seco, em papel-filtro, para detecção da concentração de fenilalanina.
- O tratamento da fenilcetonúria (PKU) baseado na restrição dietética de fenilalanina já havia sido descrito há mais de uma década, mas se realizado após início dos sintomas da doença, não revertia os danos neurológicos.
- O teste tinha como objetivo identificar indivíduos com PKU em **fase pré-sintomática** para tratamento precoce.

Dr. Guthrie cria um novo conceito de coleta, armazenagem e transporte de material biológico para análise laboratorial.



Vantagens da coleta em DBS - *Dried Blood Spots*
(Gotas de Sangue Seco)

- **Coleta simples;**
- **Transporte simplificado;**
- **Armazenagem compacta e simplificada;**
- **Matriz de sangue total;**
- **Grande variedade de analitos estáveis;**
- **Manuseio seguro das amostras;**
- **Centralização em laboratórios de referência.**

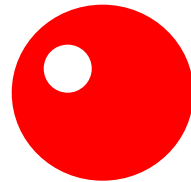


TRIAGEM NEONATAL / Teste de Guthrie



O Teste de Guthrie para Triagem Neonatal

- Uma doença
- Um teste
- Um marcador





Fenilcetonúria (PKU);

Hipotireoidismo Congênito (HC) Primário;

Doenças Falciformes (DF) e outras Hemoglobinopatias;

Fibrose Cística (FC);

Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) ou Hiperplasia Congênita da Supra Renal;

Deficiência de Biotinidase (DB).

É importante que o acompanhamento e tratamento dos pacientes detectados sejam baseados nos Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas publicados pelo Ministério da Saúde, para cada uma das doenças.

EVOLUÇÃO TECNOLÓGICA NA TRIAGEM NEONATAL



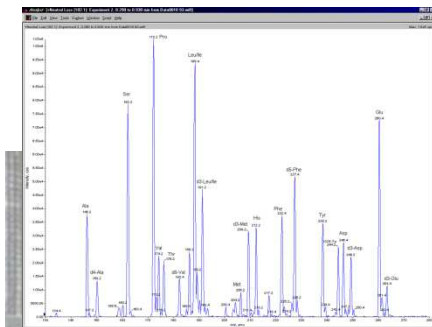
EVOLUÇÃO TECNOLÓGICA NA TRIAGEM NEONATAL



Método bacteriológico



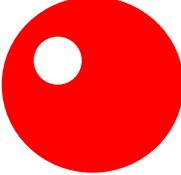
Método fluorimétrico



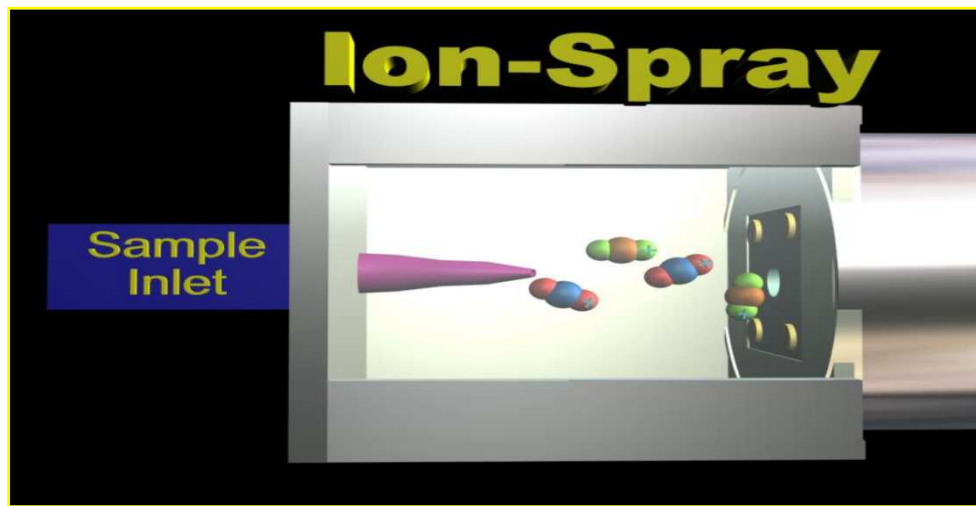
Métodos: Espectrometria de Massas (MS/MS e GC/MS) , HPLC, Biol.Molecular, etc



O Modelo Tradicional de Triagem Neonatal

- Uma doença
- Um teste 
- Uma análise
- Um nível de normalidade

Espectrometria de Massas em Tandem

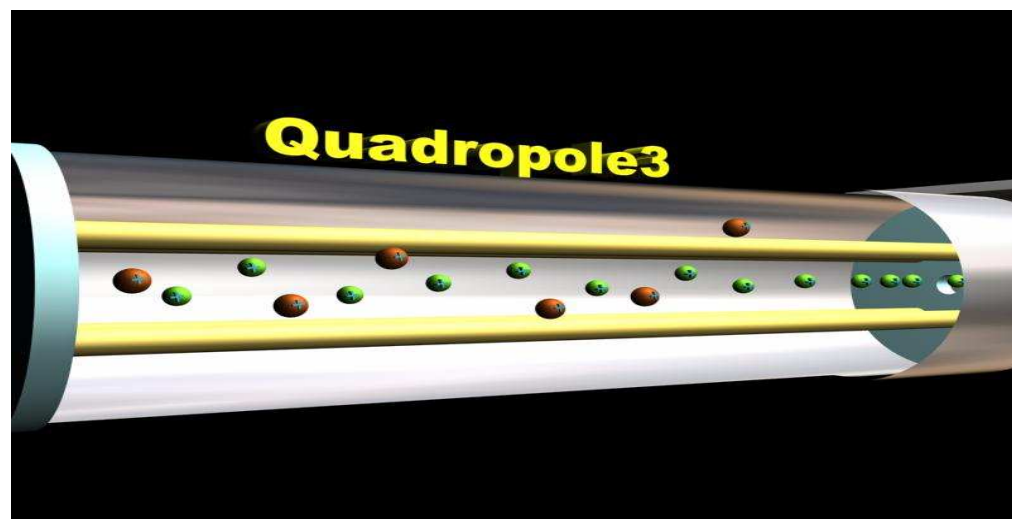
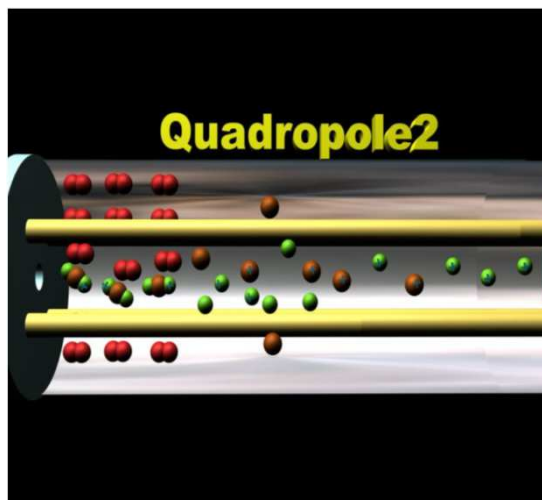


O spray de íons (ion-spray) e o primeiro filtro de massa

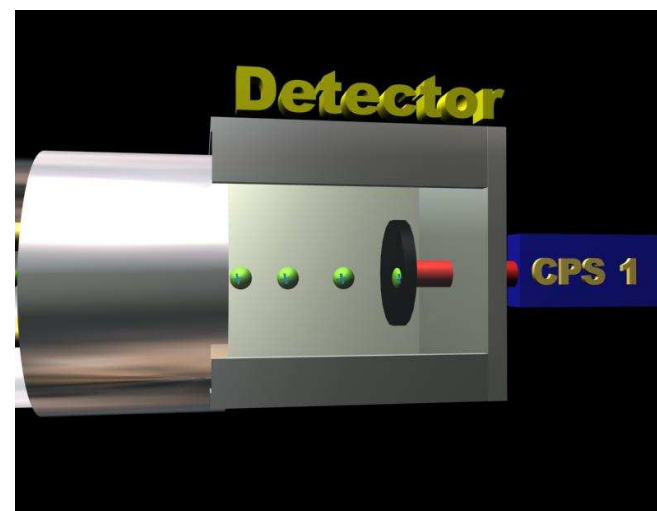


Espectrometria de Massas em Tandem

Câmara de fragmentação



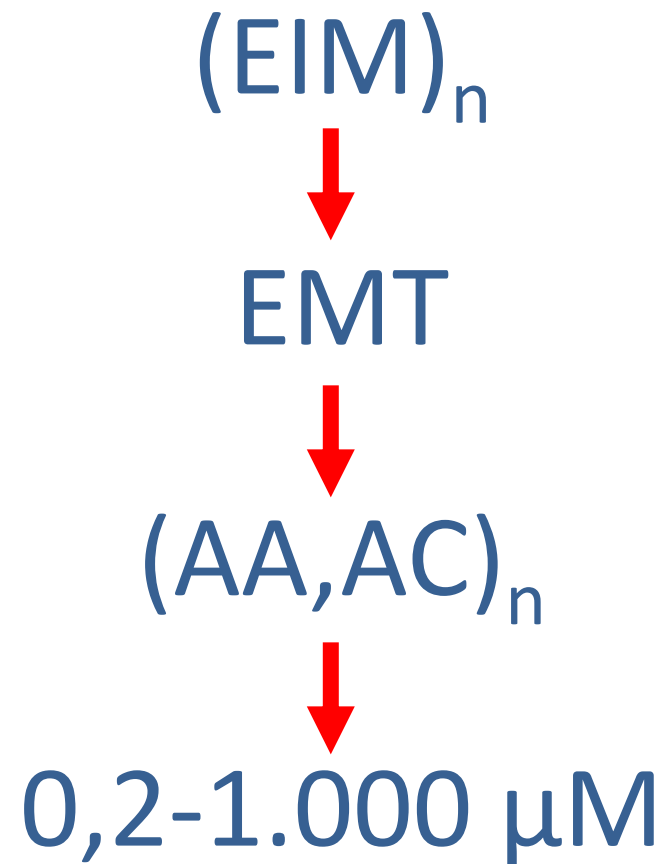
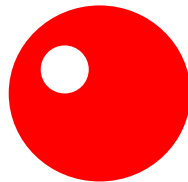
Segundo filtro de massa



Detetor : Contagens por segundo

A Triagem Neonatal Ampliada por EMT

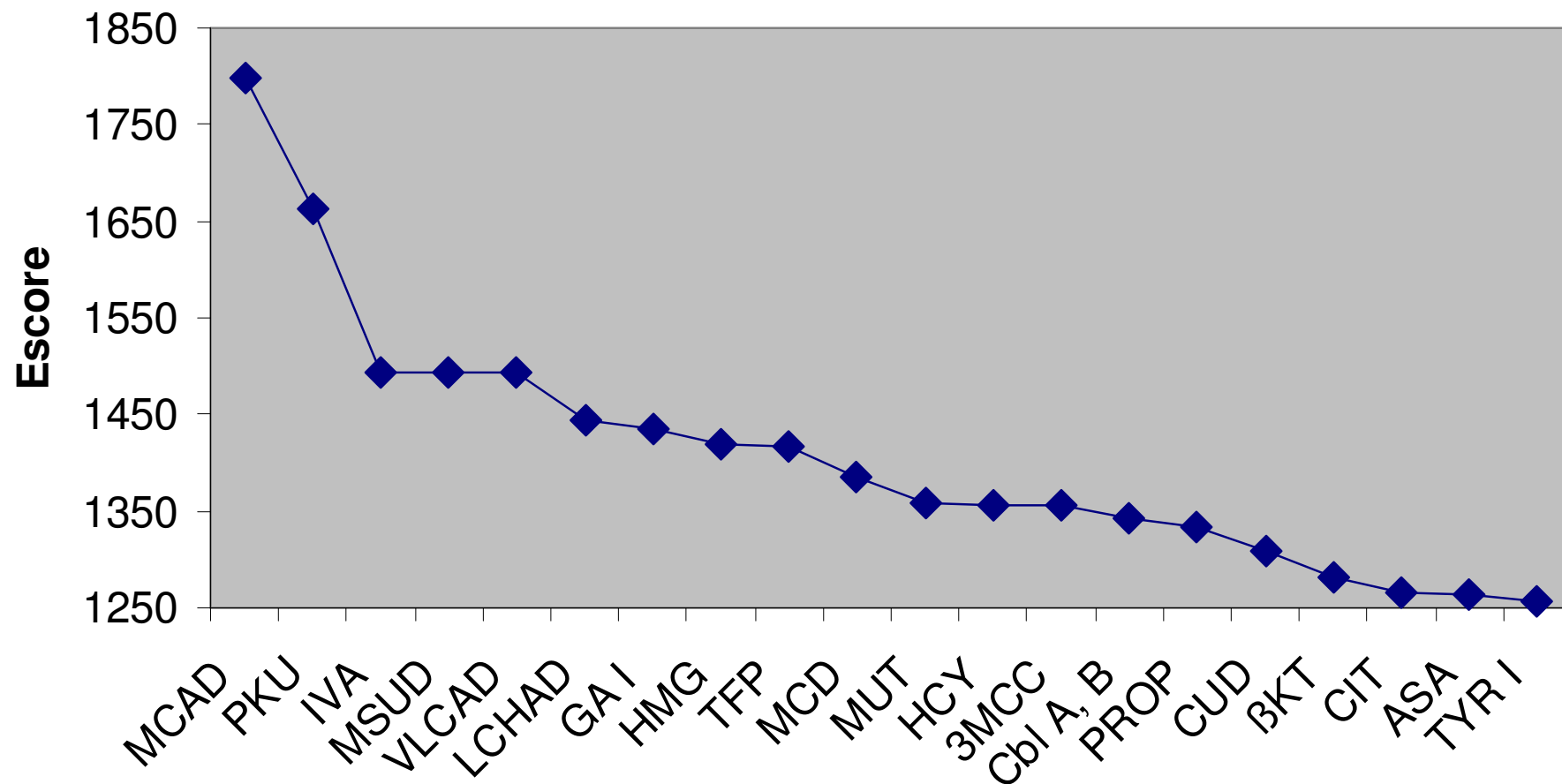
- Muitas doenças
- Um teste
- Múltiplas análises
- Diversos níveis normais



Painel Central do *American College of Medical Genetics* (2006)

American College of Medical Genetics [Watson MS et al. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System. *Genet Med* 2006;8(5, Supplement):1S–11S]

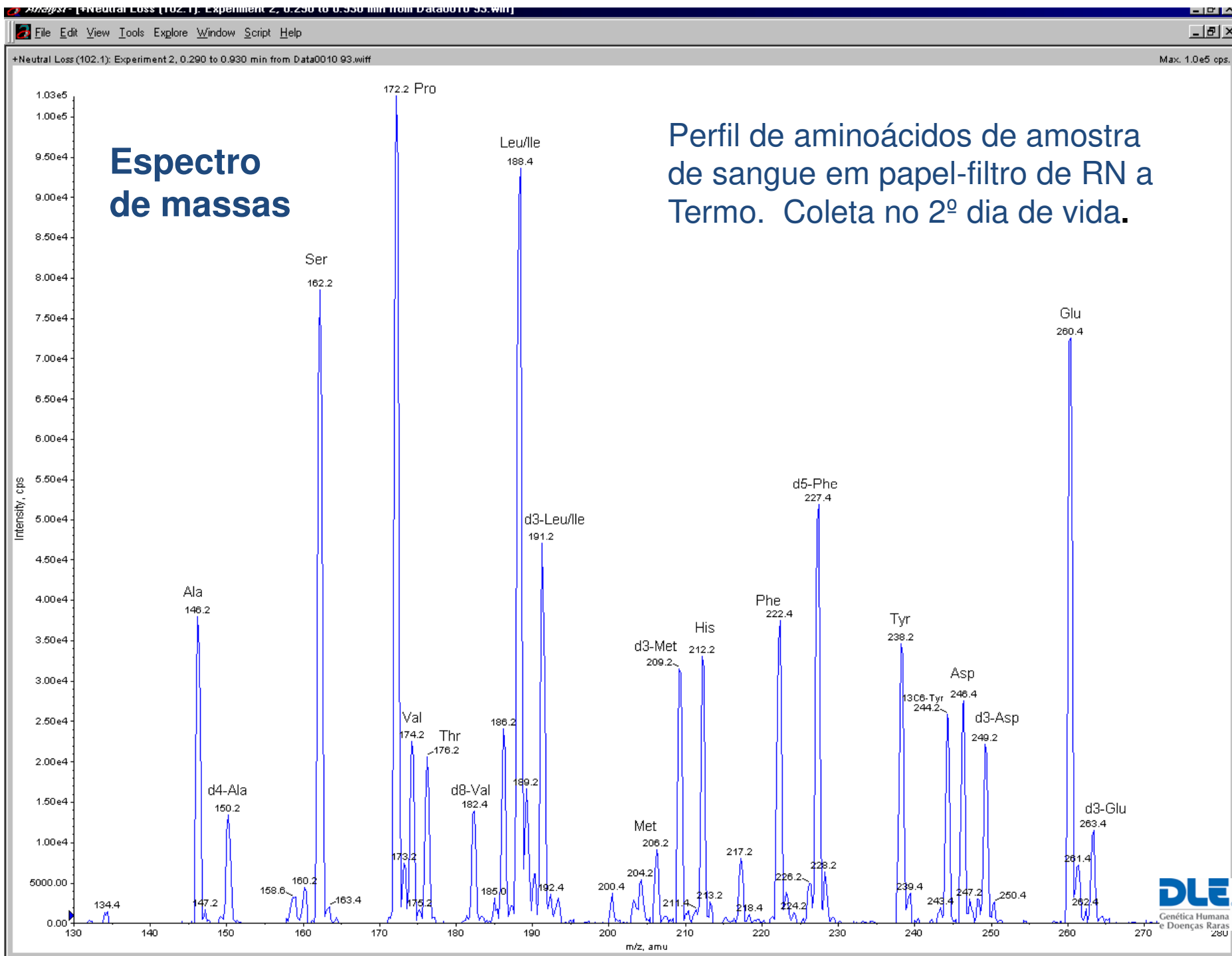
EMT ou MS/MS				
Acilcarnitinas		Aminoácidos		
9 OA	5 FAO	6 AA	3 Hb Patias	6 Outros
PAINEL CENTRAL (29 Doenças ou Condições)				
IVA GA 1 HMG MCD MMA (MUT) 3 - MCC MMA (Cb1 A,B) PROP β - KT	MCAD VLCAD LCHAD TFP CUD	PKU MSUD HCY CIT ASA TYR I	Hb SS Hb S/BTh Hb S/C	CH BIOT CAH GALT EOA CF
ALVOS SECUNDÁRIOS (25 Doenças ou Condições)				
6 OA	8 FAO	8 AA	1 Hb Patias	2 Outros
Cb1 C,D MAL IBG 2M3HBA 2MBG 3MGA	SCAD GA 2 M/SCHAD MCKAT CPT II CACT CPT IA DE RED	HYPER - PHE TYR II BIOPT (BS) ARG TYR III BIOPT (REG) MET CIT II	Var Hb*	GALK GALE

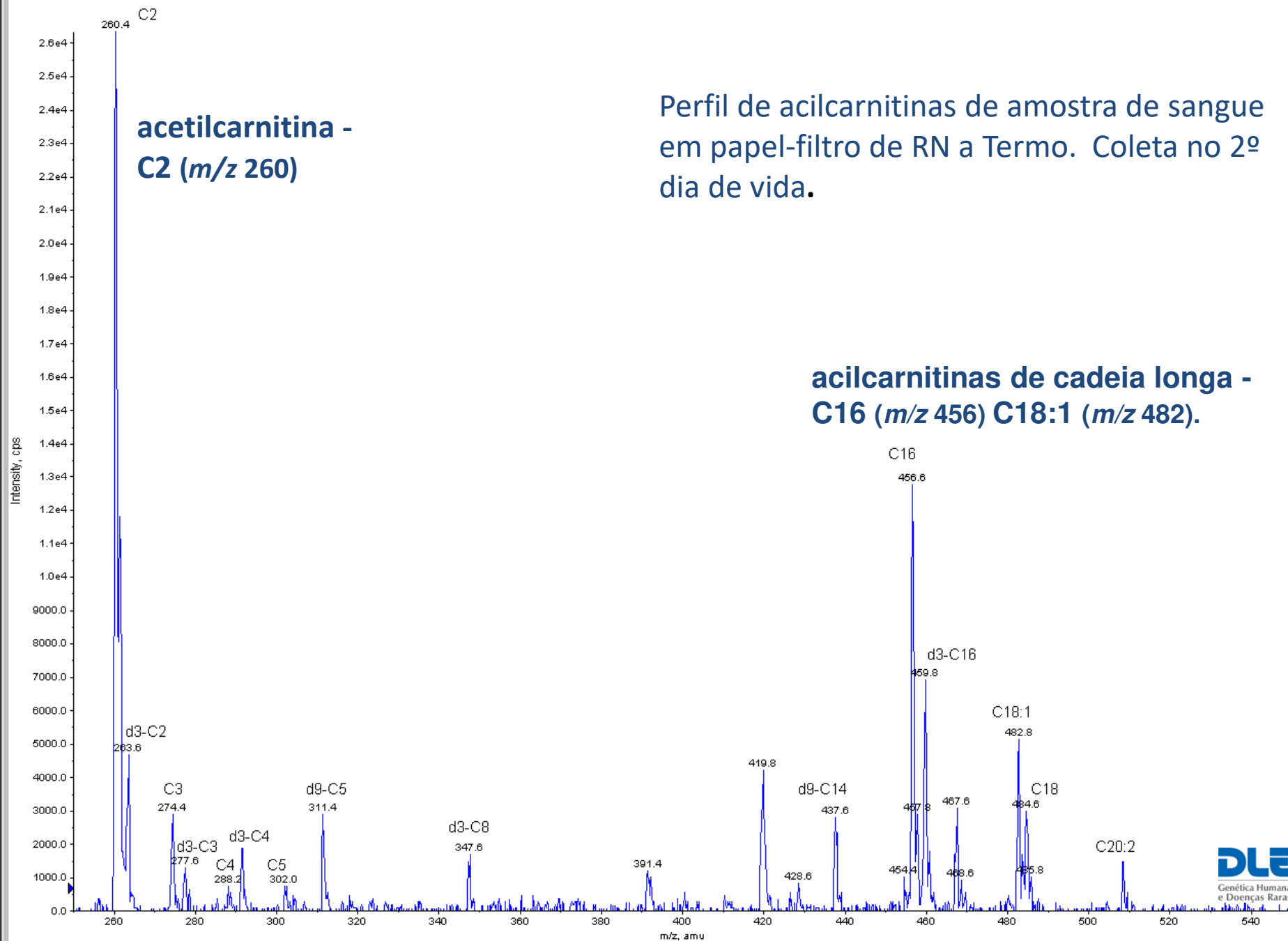


Score dos 5 FAO, 9 OA e 6 AA do Painel Central do ACMG

American College of Medical Genetics (ACMG)

[Watson MS et al. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System. Genet Med 2006;8(5, supplement):1S-11S]





ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

Análise de Perfil de Aminoácidos

Aminoacidopatias:

- 1. Fenilcetonúria e outras Hiperfenilalaninemias**
- 2. Doença da Urina do Xarope de Bordo (MSUD)**
- 3. Homocistinúria e outras Hipermetioninemias**
- 4. Tirosinemias (Tirosinemias Hereditárias Tipos I, II e III)**

Distúrbios do Ciclo da Uréia :

- 1. Deficiência de Ornitina Transcarbamilase (OTC)**
- 2. Citrulinemia**
- 3. Acidúria Argininossuccínica**
- 4. Argininemia**

ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

Perfil de Acilcarnitinas

Distúrbios da Beta Oxidação dos Ácidos Graxos:

- 1. Deficiência de Transportador de Carnitina**
- 2. Deficiência de Carnitina Palmitoil Transferase Tipo I (CPT-I)**
- 3. Deficiência de Carnitina Palmitoil Transferase Tipo II (CPT-II)**
- 4. Deficiência de Carnitina/Acilcarnitina Translocase**
- 5. Deficiência de Acil-CoA Desidrogenase de Cadeia Média (MCAD)**
- 6. Deficiência de Acil-CoA Desidrogenase de Cadeia Curta (SCAD)**
- 7. Deficiência da Acil-CoA Desidrogenase de Cadeia Muito Longa (VLCAD)**
- 8. Deficiência de 3-Hidroxiacil-CoA Desidrogenase de Cadeia Longa (LCHAD)**
- 9. Deficiência Múltipla na Desidrogenação de Acil-CoA (MADD), (= Acidúria Glutárica Tipo II - GA-II)**

ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

Perfil de Acilcarnitinas

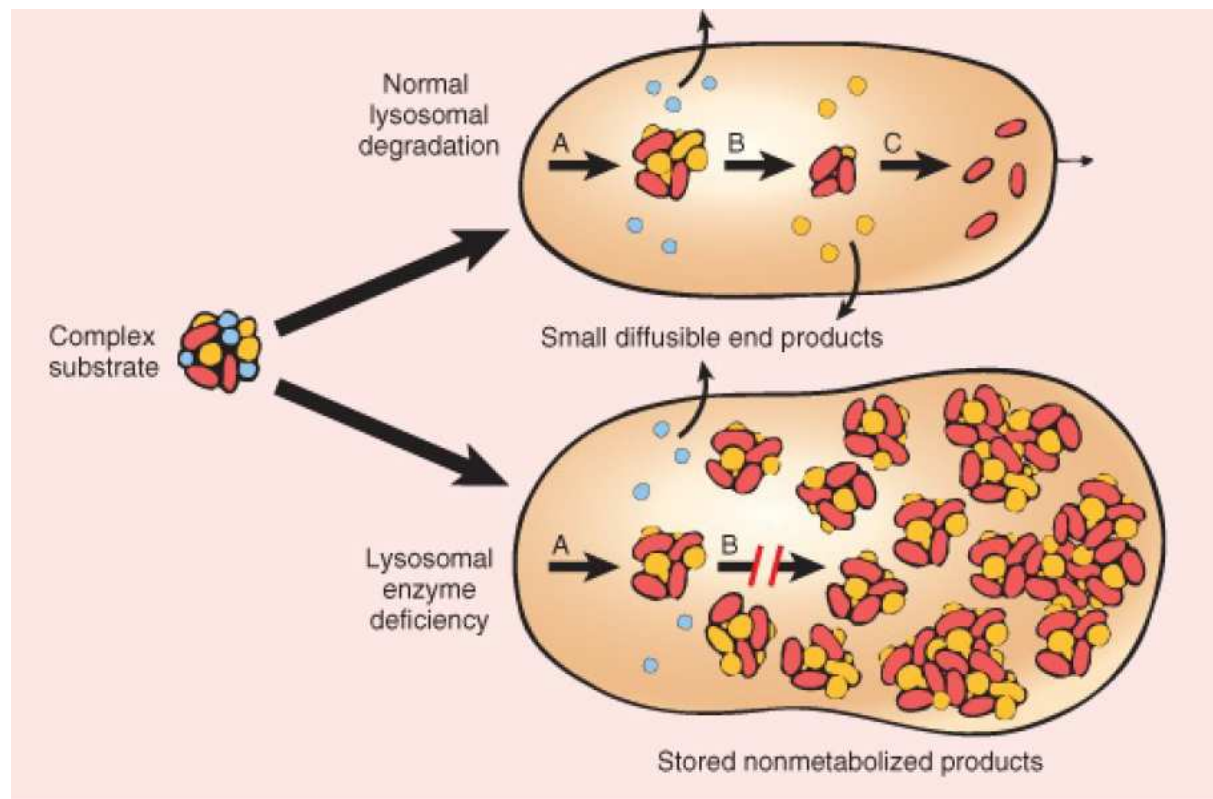
Distúrbios dos Ácidos Orgânicos:

- 1. Deficiência de 3-Hidroxi-3-Metilglutaril-CoA Liase**
- 2. Acidemia Glutárica Tipo I**
- 3. Acidemia Isovalérica**
- 4. Acidemias Metilmalônicas**
- 5. Deficiência de Metimalonil-CoA Mutase**
- 6. Alguns Defeitos de Síntese de Adenosilcobalamina**
- 7. Deficiência Materna de Vitamina B12**
- 8. Deficiência de Beta-Cetotiolase**
- 9. Acidemia Propiônica**

ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

Triagem para Doenças lisossomais (DLD)

Defeito na síntese ou catabolismo e moléculas complexas. Sintomas permanentes e progressivos, quadro clinico não tem relação com alimentação ou intercorrências.



© Elsevier 2005

Exemplos DLD

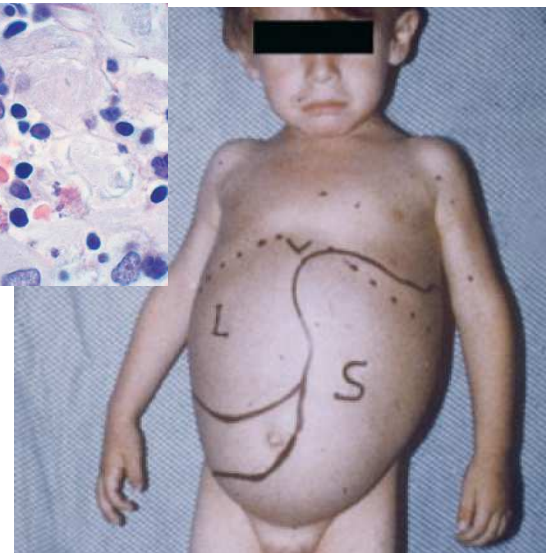
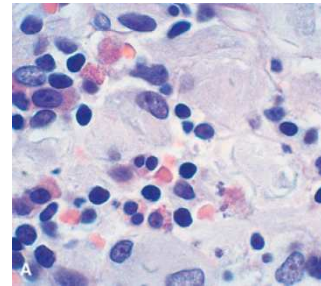


Doença de Pompe

Mucopolissacaridose tipo I



Doença de Gaucher



ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

DOENÇAS LISOSSOMAIS COM TÉCNICAS JÁ DISPONÍVEIS

- **Doença de Fabry**
- **Doença de Gaucher**
- **Doença de Pompe precoce**
- **Mucopolissacaridose tipo I (Síndrome de Hurler ou MPS-I)**
- **Doença de Niemann-Pick A/B**

ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM

DOENÇAS LISOSSOMAS EM FASE DE TESTE PARA TRIAGEM

- **Mucopolissacaridoses (MPS II, III, IV, VI e VII);**
- **Doença de Niemann-Pick tipo C;**
- **Deficiência da lipase acida lisossômica (LALD);**
- **Doença CLN2.**

TESTES JÁ DISPONÍVEIS POR METODOS CONVENCIONAIS

- **Galactosemia;**
- **Deficiência de G6PD;**

TESTES JÁ DISPONÍVEIS POR METODOS MOLECULARES

- **Surdez Congênita - Triagem Genética [GENE GJB2];**
- **Triagem para Imunodeficiência Combinada Grave - SCID e outras linfopenias de Células T.**

OUTROS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL POR DIFERENTES METODOS EM FASE DE ESTUDO

- **Hipofosfatasia (HPP);**
- **Distrofia muscular de Duchenne;**
- **Etc.**

TESTES CONFIRMATÓRIOS NECESSÁRIOS NA TRIAGEM NEONATAL





RESULTADO ALTERADO DA TRIAGEM NEONATAL

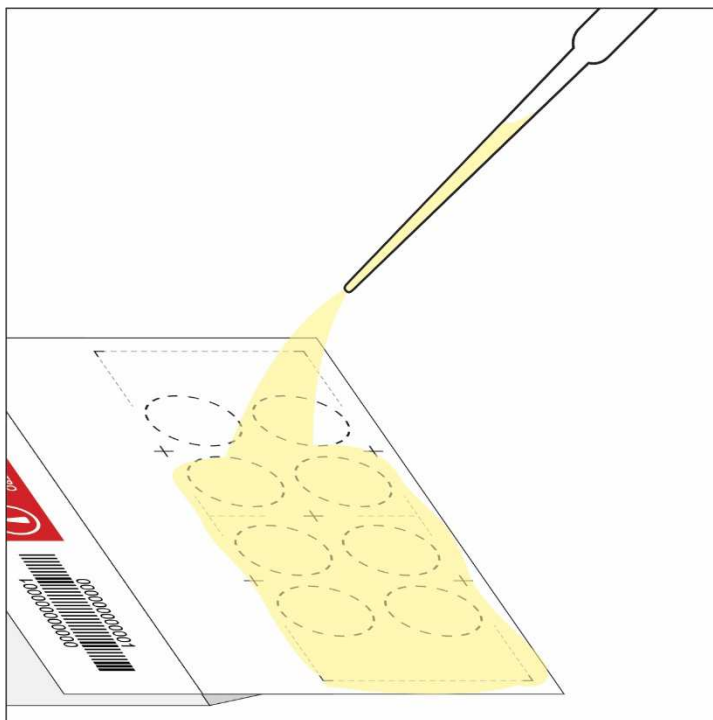
Exames complementares:

- ✓ Análise de ácidos orgânicos urinários para confirmação de Defeitos da Beta Oxidação de ácidos graxos
- ✓ Análises enzimáticas ou cromatografia de AA
- ✓ Testes moleculares (mutações ou NGS)



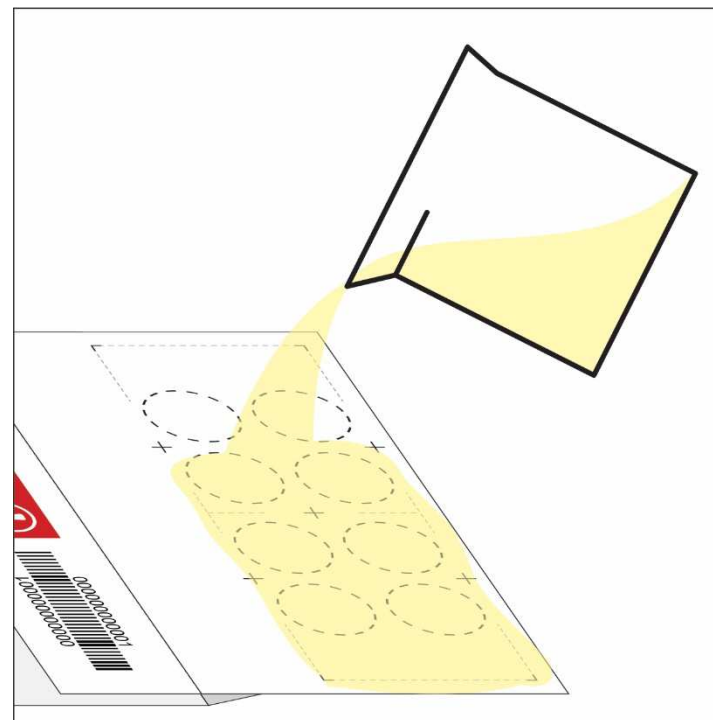


URINA

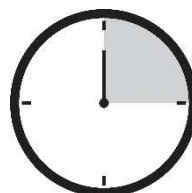


Com o auxílio de uma pipeta aplique a urina sobre o papel filtro até que fique completamente embebido.

ou



Derrame a urina do pote ou saco coletor sobre o papel filtro até que fique completamente embebido.



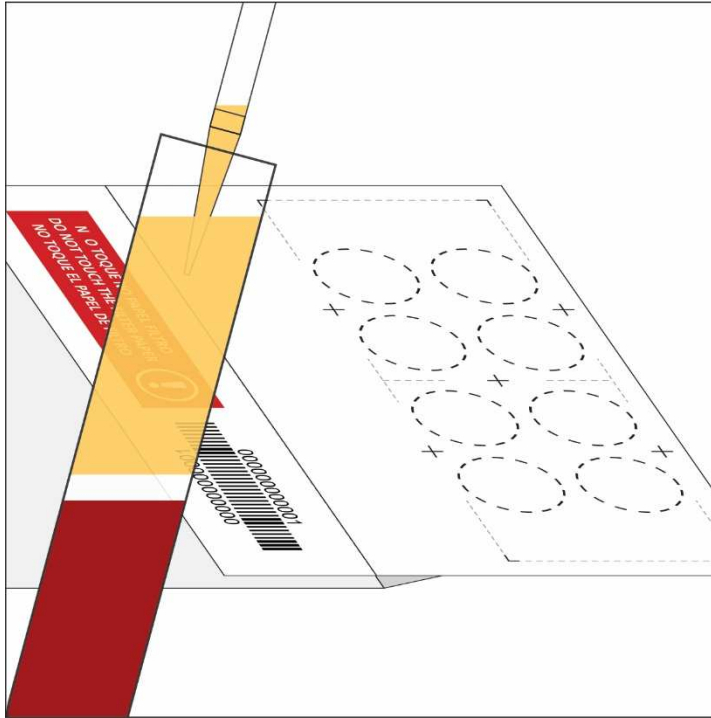
Seque por pelo menos 3 horas.



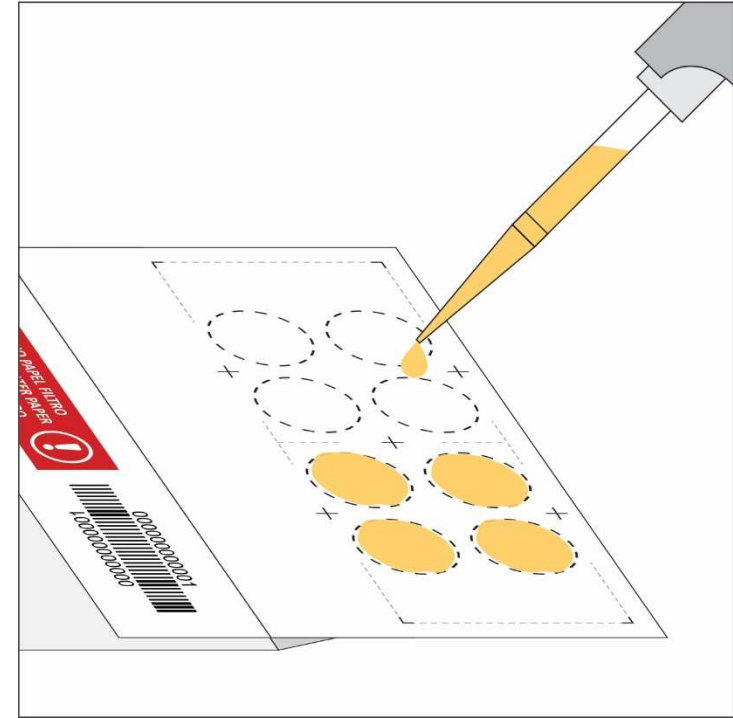
Não utilize meios para acelerar a secagem.



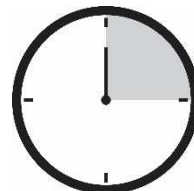
PLASMA HEPARINIZADO



Centrifugue a amostra de sangue colhido com heparina e retire o plasma com o auxílio de uma pipeta.



Aplique diretamente sobre o papel filtro para preencher completamente os círculos.



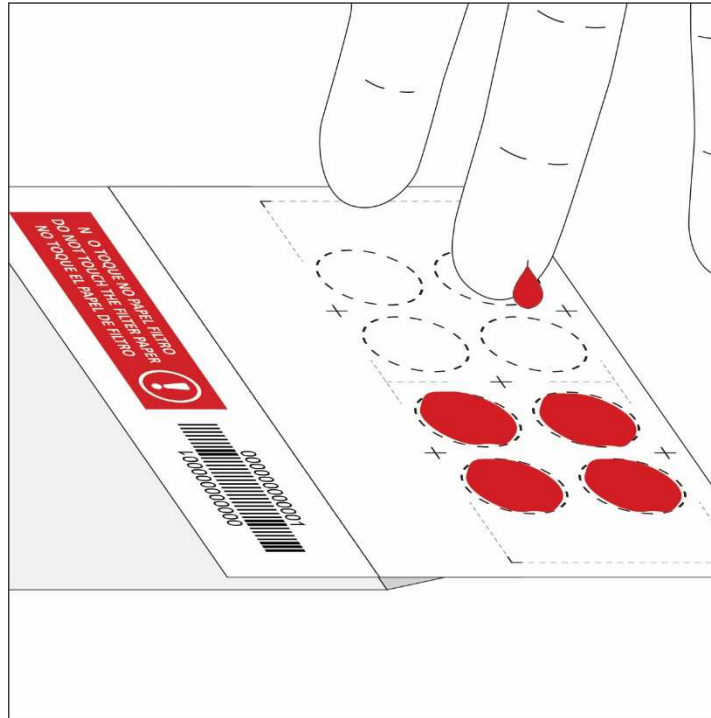
Seque por pelo menos 3 horas.



Não utilize meios para acelerar a secagem.

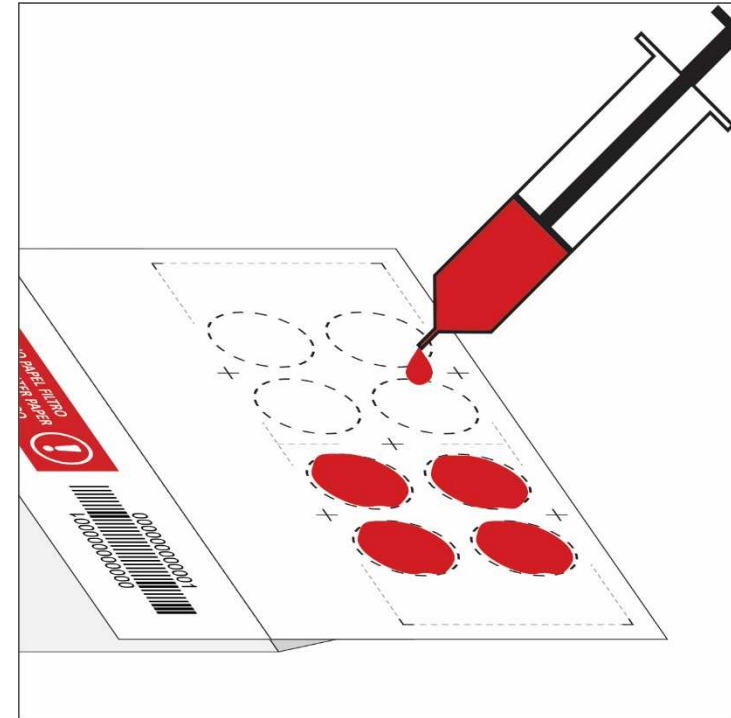


SANGUE

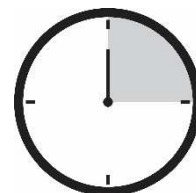


Lancete o dedo ou o calcanhar e goteje para preencher completamente os círculos.

ou



Colha o sangue com seringa ou tubo vácuo e transfira diretamente para o papel filtro.

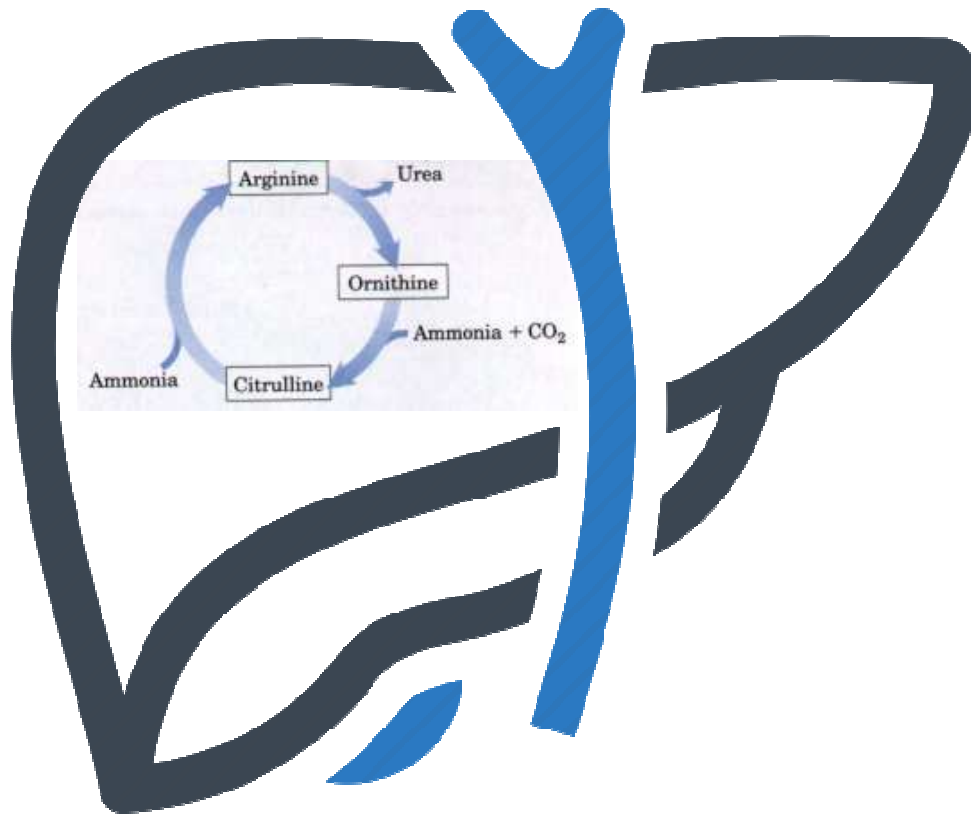


Seque por pelo menos 3 horas.



Não utilize meios para acelerar a secagem.

Painel molecular para confirmação de defeito do Ciclo da Ureia após triagem por EMT



ASL
ARG1
ASS1
SLC25A13
CPS1
NAGS
OTC
SLC25A15

Pesquisa de mutações por Sequenciamento de DNA de Nova Geração (NGS)

Painéis moleculares(NGS) com base no resultado da TN por EMT

Resultado da TN	Doença	Painel molecular
Aumento de fenilalanina	Fenilcetonúria Deficiência de BH4 Hiperfenilalaninemia	PAH, PTS, GCH1, QDPR, SPR, PCBD1, DNAJC12
Aumento de metionina	Homocistinúria Hipermetioninemia Acidúria metilmalônica Cistationúria Deficiência de glicina-N-metiltransferase ...	ADK, AHCY, ALDH6A1, CBS, CD320, CTH, GNMT, LMBRD1, MAT1A, MCEE, MMAA, MMACHC, MMADHC, MTHFR, MTR, MTRR, MUT, TCN2
Aumento de C4	Encef. Etilmalônica Def. IBDH	ACADS, ETHE1, ACAD8
Elevação de C5	Acidemia isovalérica	IVD, ACADSB

CONCLUSÃO

- **Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;**

CONCLUSÃO

- Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;
- Para a implantação de um teste ampliado pelo PNTN serão necessários pelo menos um equipamento para cada 5000 recém nascidos triados mensalmente;

CONCLUSÃO

- Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;
- Para a implantação de um teste ampliado pelo PNTN serão necessários pelo menos um equipamento para cada 5000 recém nascidos triados mensalmente;
- Centros de referencia em testes confirmatórios deverão ser credenciados para minimizar custos;

CONCLUSÃO

- Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;
- Para a implantação de um teste ampliado pelo PNTN serão necessários pelo menos um equipamento para cada 5000 recém nascidos triados mensalmente;
- Centros de referencia em testes confirmatórios deverão ser credenciados para minimizar custos;
- É necessário um levantamento da prevalência de doenças já triada no Brasil por EMT;

CONCLUSÃO

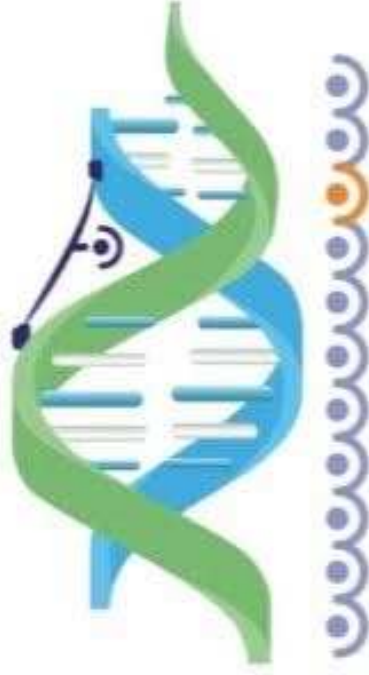
- Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;
- Para a implantação de um teste ampliado pelo PNTN serão necessários por pelo menos um equipamento para cada 5000 recém nascidos triados mensalmente;
- Centros de referencia em testes confirmatórios deverão ser credenciados para minimizar custos;
- É necessário um levantamento da prevalência de doenças já triada no Brasil por EMT;
- Na ausência de estudo de prevalência, programas piloto devem ser introduzidos com base na experiência da literatura internacional para adequar gradativamente o portfólio de doenças à realidade brasileira;

CONCLUSÃO

- Um levantamento da distribuição das demandas dos testes colhidos para o PNTN já implantado deverá orientar a implantação de equipamentos de EMT para o teste ampliado;
- Para a implantação de um teste ampliado pelo PNTN serão necessários pele menos um equipamento para cada 5000 recém nascidos triados mensalmente;
- Centros de referencia em testes confirmatórios deverão ser credenciados para minimizar custos;
- É necessário um levantamento da prevalência de doenças já triada no Brasil por EMT;
- Na ausência de estudo de prevalência, programas piloto devem ser introduzidos com base na experiência da literatura internacional para adequar gradativamente o portfólio de doenças à realidade brasileira;
- Recomendado iniciar com um número reduzido de doenças e ampliar gradativamente para que a capacitação da equipe multidisciplinar de suporte familiar, terapêutico e nutricional acompanhe os novos desafios.

**INSCRIÇÕES
ABERTAS**

De 15 a 18 de maio de 2018
Centro de Convenções Sul América
Rio de Janeiro-RJ



**XXX Congresso Brasileiro
de Genética Médica**

Sociedade Brasileira de Genética Médica

**VII Congresso
Brasileiro da SBTEIM**

Sociedade Brasileira de Triage

Neonatal e Erros Inatos do Metabolismo

**IV Congresso Brasileiro de
Enfermagem em Genética
e Genômica.**

www.cbgmcbteim2018.com.br

SBGM
Sociedade Brasileira
de GENÉTICA MÉDICA

SBTEIM
Sociedade Brasileira
Triage Neonatal
Erros Inatos do Metabolismo

SBEGG

Oportunidade única
para o diagnóstico pré-
sintomático e início
precoce da abordagem
terapêutica.



***OBRIGADO POR SUA
ATENÇÃO***

Armando A. Fonseca

Presidente

Ana Maria Martins

Vice –presidente

secretaria@sbteim.org.br
presidencia@sbteim.org.br

(21) 53986348

sbteim.org.br



SBTEIM

Sociedade Brasileira

Triagem Neonatal
Erros Inatos do Metabolismo

