

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

IVY HULBERT FALCÃO FURTADO

AVALIAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL BIOLÓGICA EM RECÉM-  
NASCIDOS PREMATUROS

CURITIBA

2017

IVY HULBERT FALCÃO FURTADO

AVALIAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL BIOLÓGICA EM RECÉM-  
NASCIDOS PREMATUROS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente.

Área de concentração: Endocrinologia  
Pediátrica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suzana Nesi França

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lucia  
Figueiredo Sarquis

CURITIBA

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA  
JORDÃO CRB9/991 COM OS DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

F992 Furtado, Ivy Hubert Falcão

Avaliação dos testes de triagem neonatal biológica em recém-nascidos prematuros / Ivy Hulbert Falcão Furtado. – Curitiba, 2017.  
99 f. : il.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Suzana Nesi França

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Lucia Figueiredo Sarquis

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Triagem neonatal. 2. Recém-nascido prematuro. 3. Fenilcetonúria materna. 4. Hipotireoidismo congênito. 5. Deficiência de biotinidase. 6. Reações falso-positivas. 7. Reações falso-negativas. I. França, Suzana Nesi. II. Sarquis, Ana Lucia Figueiredo. III. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLMC: WS 410



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

*Programa de Pós-Graduação Mestrado e Doutorado  
em Saúde da Criança e do Adolescente*



## *Parecer*

A Banca Examinadora, instituída pelo colegiado do **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO - Mestrado e Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente**, do Setor de Ciências Saúde, da Universidade Federal do Paraná, após arguir a Mestranda

*Ivy Hulbert Falcão Furtado*

em relação a sua Dissertação de Mestrado intitulada:

**“AVALIAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL BIOLÓGICA EM RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS”**

é de parecer favorável à *Aprovação* da acadêmica, habilitando-a ao título de *Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente*,  
Área de Concentração em *Endocrinologia Pediátrica*  
Área Específica *Medicina*

Curitiba, 28 de novembro de 2017

*Professora Doutora Suzana Nesi França*

Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná - UFPR  
Presidente da Banca Examinadora e Orientadora do Trabalho.

*Professora Doutora Ana Lúcia Figueiredo Sarquis*

Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná-UFPR; Co-Orientadora

*Professora Doutora Sofia Helena Valente de Lemos-Marini*

Professora Assistente a Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP; Primeira Examinadora.

*Professora Doutora Regina Paula Guimarães Vieira Cavalcante da Silva*

Professora Associada do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná - UFPR; Segunda Examinadora.

*Professor Doutor Nelson Augusto Rosário Filho*

Professor Titular do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná-UFPR.  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação - Mestrado e Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente da UFPR  
Em Exercício

Rua: General Carneiro, 181 - 14º. andar - Alto da Glória - Curitiba - PR - CEP 80060-900

Coordenação: (041) 3360-1863 - e-mail: [monica.lima.ufpr@gmail.com](mailto:monica.lima.ufpr@gmail.com)

Secretaria: (041) 3360-7980 - e-mail: [pgradped@hc.ufpr.br](mailto:pgradped@hc.ufpr.br) - [clara.lara@ufpr.br](mailto:clara.lara@ufpr.br)

Dedico esta dissertação aos meus filhos e ao meu marido, com quem aprendi a rir e a chorar e principalmente a não julgar, enfim...aprendi a amar.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, pela imensa misericórdia e por iluminar o meu caminho.

Aos meus pais, pelo apoio incansável e pelos ensinamentos e exemplos que oportunizaram os meus passos nesta jornada.

Às minhas orientadoras, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suzana Nesi França e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lucia Figueiredo Sarquis pela amizade, força e cobranças.

À Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional pela disponibilização dos dados presentes neste estudo.

À Mouseline Torquato Domingos, pela amizade e apoio nas diversas fases do estudo.

À Dra. Monica Nunes Lima Cat, pela realização da estatística e pelas aulas excepcionais.

Ao Dr. Ehrenfried Wittig, pai do “Teste do Pezinho”, que idealizou o Programa de Triagem Neonatal no Estado do Paraná e que mostrou como os sonhos viram realidade.

Aos colegas Cirlene Mesquita, Adinan Vale da Rocha e Pamela Roberta Alcântara, pela ajuda com os dados do sistema da FEPE e pela disponibilidade em ajudar sorrindo sempre que solicitados.

À Luciana Ramos Miranda Andersen, pela separação e captação dos cartões de coleta.

À acadêmica Ingrid Louise Fernandes e Silva, pela coleta de assinaturas das mães de recém-nascidos prematuros no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Aos enfermeiros e técnicos de enfermagem das maternidades, que participaram do estudo e que se dispuseram a coletar assinatura dos pais dos recém-nascidos para o termo de consentimento livre e esclarecido e a preencher os dados do questionário.

Aos colegas do ambulatório, que mesmo sem saber, contribuíram para que esta dissertação desse certo.

## RESUMO

Os testes de triagem neonatal biológica, também conhecidos como “Teste do Pezinho”, são utilizados para a triagem de doenças genéticas, endócrinas e metabólicas. Os recém-nascidos prematuros (RNPT) apresentam maior índice de resultados falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) na triagem neonatal. O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência de resultados FP e FN nos testes de triagem neonatal biológica para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e hiperplasia adrenal congênita em RNPT em Curitiba, analisar quais fatores podem influenciar os resultados e avaliar a adesão ao protocolo de coleta para RNPT. Foi realizado um estudo transversal, com coleta de dados prospectiva, em 11 hospitais e maternidades de Curitiba, no período de março a dezembro de 2015. Os resultados foram comparados com os resultados dos testes de triagem realizados nos recém-nascidos a termo (RNT). Participaram do estudo 1.753 RNPT e 18.028 RNT. A prevalência de FP nos RNPT para fenilcetonúria foi de 1:150, para hipotireoidismo congênito foi de 1:133, para deficiência de biotinidase foi de 1:447 e para HAC foi de 1:5,6. A coleta precoce, realizada com menos de 48 horas de vida, representou maior risco de resultados FP para hipotireoidismo congênito e hiperplasia adrenal congênita (26,78 e 16,41, respectivamente). A coleta precoce da amostra não influenciou os resultados dos testes de triagem para fenilcetonúria e deficiência de biotinidase. Somente um paciente apresentou elevação tardia do hormônio estimulante da tireoide (TSH). Não houve relatos de resultados FN. A prematuridade e a coleta precoce foram consideradas como fatores de risco para maior frequência de FP nos testes de triagem neonatal. Somente 486 (28%) dos RNPT realizaram a segunda coleta do teste de triagem neonatal, conforme indica o protocolo para RNPT. É recomendada uma segunda coleta do teste de triagem com o objetivo de diagnosticar os casos de elevação tardia do TSH.

Palavras-chave: Triagem neonatal. Prematuridade. Fenilcetonúria. Hipotireoidismo congênito. Deficiência de biotinidase. Hiperplasia adrenal congênita. Falso-positivo. Falso-negativo.

## ABSTRACT

Neonatal screening tests are used for the screening of genetic, endocrine and metabolic diseases. Preterm newborns have a higher false-positive and false-negative results in neonatal screening. The objective of this study was to estimate the prevalence of false-positive and false-negative results in the neonatal screening tests for phenylketonuria, congenital hypothyroidism, biotinidase deficiency and congenital adrenal hyperplasia in preterm newborns in Curitiba, to analyze other factors that influences the results and to evaluate the adherence to the newborn screening guideline for preterm newborn. A cross-sectional study with prospective data collection was carried out in 11 hospitals in Curitiba from March to December 2015. The results were compared with the results of the screening tests performed on the term newborns. A total of 1,753 preterm newborns and 18,028 term newborns was included. The prevalence of false-positive in preterm newborn for phenylketonuria was 1:150, for congenital hypothyroidism was 1:133, for biotinidase deficiency was 1:447 and for HAC was 1:5,6. Early dried blood spots, collected before 48 hours postnatal age, showed a higher risk of false-positive results for congenital hypothyroidism and congenital adrenal hyperplasia (26.78 and 16.41, respectively). Early sample collection did not influence the results of the screening tests for phenylketonuria and biotinidase deficiency. Only one patient had delayed thyroid stimulating hormone (TSH) elevation. There were no reports of false-negative results. Prematurity and early collection were considered as risk factors for higher frequency of false-positive in neonatal screening tests. Only 486 (28) of the preterm newborn performed the second dried blood spot, according to guideline. A second dried blood spot for screening test is recommended to diagnose cases of delayed TSH elevation.

Key-words: Newborn screening. Prematurity. Phenylketonuria. Congenital hypothyroidism. Biotinidase deficiency. Congenital adrenal hyperplasia. False-positive. False-negative.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|           |   |                                                                                                                                                                              |    |
|-----------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| GRÁFICO 1 | - | MUDANÇAS NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DO HORMÔNIO ESTIMULANTE DA TIREOIDE E DA TETRA- IODOTIRONINA NOS RECÉM-NASCIDOS A TERMO E PRÉ-TERMO NOS PRIMEIROS CINCO DIAS DE VIDA..... | 23 |
| QUADRO 1  | - | CRITÉRIOS DE POSITIVIDADE DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA, HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO E DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE.....                                    | 40 |
| QUADRO 2  | - | CRITÉRIOS DE POSITIVIDADE DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA DE ACORDO COM O PESO DO RECÉM- NASCIDO.....                                      | 40 |
| QUADRO 3  | - | CRITÉRIOS DE CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO PARA FENILCETONÚRIA, HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO, DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE E HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA .....                     | 41 |
| FIGURA 1  | - | POSSIBILIDADE DE RESULTADOS DOS TESTES DE TRIAGEM DE ACORDO COM O ESTADO DA DOENÇA.....                                                                                      | 41 |
| FIGURA 2  | - | ESTRATIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS AVALIADOS NO ESTUDO.....                                                                                                                   | 44 |
| GRÁFICO 2 | - | DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DE SEGUNDA COLETA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL .....                                                                                         | 46 |
| GRÁFICO 3 | - | MEDIANA DE 17-HIDROXIPROGESTERONA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL.....                                                                                                     | 54 |
| GRÁFICO 4 | - | MEDIANA DA 17-HIDROXIPROGESTERONA DE ACORDO COM O PESO DO RECÉM-NASCIDO.....                                                                                                 | 56 |

## LISTA DE TABELAS

|           |   |                                                                                                                       |    |
|-----------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1  | - | CLASSIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL E COM O PESO.....                                  | 45 |
| TABELA 2  | - | CLASSIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL.....                                               | 47 |
| TABELA 3  | - | CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA.....                                                 | 48 |
| TABELA 4  | - | MEDIANA DE FENILALANINA (mg/dL) DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL.....                                                | 48 |
| TABELA 5  | - | RECÉM-NASCIDOS COM RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA FENILCETONÚRIA .....                                               | 49 |
| TABELA 6  | - | CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO.....                                      | 49 |
| TABELA 7  | - | MEDIANA DO HORMÔNIO ESTIMULANTE DA TIREOIDE DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL E IDADE DO RECÉM-NASCIDO NA COLETA..... | 50 |
| TABELA 8  | - | RISCO RELATIVO PARA RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO NOS RECÉM-NASCIDOS.....                 | 51 |
| TABELA 9  | - | CARACTERÍSTICA DOS CASOS VERDADEIRO-POSITIVOS PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO.....                                     | 52 |
| TABELA 10 | - | CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE.....                                     | 53 |
| TABELA 11 | - | MEDIANA DE 17-HIDROXIPROGESTERONA (ng/mL) DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL.....                                      | 54 |
| TABELA 12 | - | CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA.....                                  | 55 |
| TABELA 13 | - | RISCO RELATIVO PARA RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA NOS RECÉM-NASCIDOS.....             | 55 |

## LISTA DE SIGLAS

|        |   |                                                                    |
|--------|---|--------------------------------------------------------------------|
| 17-OHP | - | 17-Hidroxiprogesterona                                             |
| 21-OH  | - | 21-Hidroxilase                                                     |
| ACTH   | - | <i>Adrenocorticotropic Hormone</i> (Hormônio Adrenocorticotrófico) |
| AIG    | - | Adequados para a Idade Gestacional                                 |
| BPE    | - | Baixo Peso Extremo                                                 |
| BPM    | - | Baixo Peso Moderado                                                |
| EP     | - | Excesso de Peso                                                    |
| FAL    | - | Fenilalanina                                                       |
| FEPE   | - | Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional                      |
| FN     | - | Falso-negativo                                                     |
| FP     | - | Falso-positivo                                                     |
| GIG    | - | Grandes para a Idade Gestacional                                   |
| HAC    | - | Hiperplasia Adrenal Congênita                                      |
| IC     | - | Intervalo de Confiança                                             |
| IG     | - | Idade Gestacional                                                  |
| MBP    | - | Muito Baixo Peso                                                   |
| MP     | - | Muito Prematuro                                                    |
| NPT    | - | Nutrição Parenteral Total                                          |
| OMS    | - | Organização Mundial da Saúde                                       |
| PA     | - | Peso Adequado                                                      |
| PE     | - | Prematuro Extremo                                                  |
| PM     | - | Prematuro Moderado                                                 |
| PIG    | - | Pequenos para a Idade Gestacional                                  |
| QI     | - | Quociente de Inteligência                                          |
| RN     | - | Recém-nascidos                                                     |
| RNPT   | - | Recém-nascido Pré-termo                                            |
| RNT    | - | Recém-nascido a Termo                                              |
| RR     | - | Risco Relativo                                                     |

|                  |   |                                                                       |
|------------------|---|-----------------------------------------------------------------------|
| SESA             | - | Secretaria Estadual de Saúde do Paraná                                |
| STRN             | - | Serviço de Referência em Triagem Neonatal                             |
| STRN-PR          | - | Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado do Paraná         |
| T <sub>3</sub>   | - | Triiodotironina                                                       |
| T <sub>4</sub>   | - | Tetraiodotironina                                                     |
| T <sub>4</sub> L | - | Tetraiodotironina Livre                                               |
| T <sub>4</sub> T | - | Tetraiodotironina Total                                               |
| TBG              | - | <i>Thyroxine Binding Globulin</i> (Proteína Ligadora da Globulina)    |
| TCLE             | - | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido                            |
| TSH              | - | <i>Thyroid-stimulating Hormone</i> (Hormônio Estimulante da Tireoide) |
| UEP              | - | Unidade de Endocrinologia Pediátrica                                  |
| UFPR             | - | Universidade Federal do Paraná                                        |
| UNICEF           | - | Fundo das Nações Unidas para a Infância                               |
| UTIN             | - | Unidade de Terapia Intensiva Neonatal                                 |
| VN               | - | Verdadeiro-negativo                                                   |
| VP               | - | Verdadeiro-positivo                                                   |

## SUMÁRIO

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....                                            | 13 |
| 1.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....                                          | 14 |
| 1.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS .....                                      | 14 |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....                                 | 15 |
| 2.1 TRIAGEM NEONATAL BIOLÓGICA .....                                 | 15 |
| 2.2 DOENÇAS TRIADAS NO PROGRAMA NACIONAL DE TRIAGEM<br>NEONATAL..... | 18 |
| 2.2.1 Fenilcetonúria.....                                            | 18 |
| 2.2.2 Hipotireoidismo congênito .....                                | 20 |
| 2.2.3 Deficiência de biotinidase.....                                | 26 |
| 2.2.4 Hiperplasia Adrenal Congênita .....                            | 28 |
| 2.3 PREMATURIDADE E A TRIAGEM NEONATAL .....                         | 32 |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                                    | 36 |
| 3.1 TIPO DE ESTUDO .....                                             | 36 |
| 3.2 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO .....                                  | 36 |
| 3.3 CASUÍSTICA.....                                                  | 36 |
| 3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....                                       | 36 |
| 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....                                      | 37 |
| 3.6 POPULAÇÃO DE ESTUDO .....                                        | 37 |
| 3.7 HIPÓTESE DE ESTUDO .....                                         | 37 |
| 3.8 VARIÁVEIS DE ESTUDO.....                                         | 37 |
| 3.8.1 Variáveis dependentes .....                                    | 37 |
| 3.8.2 Variáveis independentes .....                                  | 37 |
| 3.8.3 Variáveis interferentes.....                                   | 38 |
| 3.9 PROCEDIMENTO DE PESQUISA.....                                    | 38 |
| 3.10 REGISTRO E GERENCIAMENTO DE DADOS .....                         | 42 |
| 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                       | 42 |

|                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.12 ÉTICA EM PESQUISA.....                                 | 42        |
| 3.13 FOMENTOS PARA PESQUISA .....                           | 43        |
| <b>4 RESULTADOS .....</b>                                   | <b>44</b> |
| 4.1 TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA .....              | 47        |
| 4.2 TRIAGEM NEONATAL PARA hipotireoidismo congênito .....   | 49        |
| 4.3 TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE .....  | 52        |
| 4.4 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA.... | 53        |
| <b>5 DISCUSSÃO .....</b>                                    | <b>58</b> |
| 5.1 TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA .....              | 58        |
| 5.2 TRIAGEM Neonatal PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO .....   | 60        |
| 5.3 TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE .....  | 65        |
| 5.4 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA.... | 66        |
| 5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....                               | 70        |
| <b>6 CONCLUSÕES .....</b>                                   | <b>73</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                    | <b>75</b> |
| <b>APÊNDICE 1 .....</b>                                     | <b>85</b> |
| <b>APÊNDICE 2 .....</b>                                     | <b>86</b> |
| <b>ANEXO 1 .....</b>                                        | <b>87</b> |
| <b>ANEXO 2 .....</b>                                        | <b>88</b> |
| <b>ANEXO 3 .....</b>                                        | <b>89</b> |
| <b>ANEXO 4 .....</b>                                        | <b>90</b> |
| <b>ANEXO 5 .....</b>                                        | <b>91</b> |
| <b>ANEXO 6 .....</b>                                        | <b>92</b> |
| <b>ANEXO 7 .....</b>                                        | <b>93</b> |
| <b>ANEXO 8 .....</b>                                        | <b>94</b> |
| <b>ANEXO 9 .....</b>                                        | <b>99</b> |

## 1 Introdução

Os testes de triagem neonatal biológica, também conhecidos como “Teste do Pezinho”, são utilizados para a triagem de doenças genéticas, endócrinas e metabólicas. Desde que foram introduzidos, por Robert Guthrie na década de 60, apresentaram impacto positivo no prognóstico e custo-benefício dos programas de triagem neonatal, levando ao reconhecimento e tratamento precoces destas doenças, antes do aparecimento dos sintomas clínicos ou sequelas.

Os recém-nascidos pré-termo (RNPT) apresentam imaturidade funcional de seus órgãos e de seu sistema endócrino, o que pode levar à maior incidência de falso-positivos (FP) e falso-negativos (FN) nos testes de triagem neonatal. Além disso, são mais expostos aos cuidados intensivos como nutrição parenteral total (NPT), administração de antibióticos e drogas vasoativas, transfusão de hemoderivados, jejum prolongado e exposição de glicocorticoides pré e pós-natal, que também levam à maior índice de FP e FN (Larson *et al.*, 2003; Kaye *et al.*, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Slaughter *et al.*, 2010).

Algumas doenças como o hipotireoidismo congênito, a fenilcetonúria e a hiperplasia adrenal congênita (HAC) necessitam de um diagnóstico muito precoce, no máximo até a segunda semana de vida. O retardo no início do tratamento pode resultar em sequelas irreversíveis ou, até mesmo, em óbito. Os resultados FN levam ao atraso no diagnóstico e sequelas para os recém-nascidos (RN). Já os valores FP causam ansiedade desnecessária aos pais, pioram a relação custo-efetividade dos programas de triagem para cada doença e podem aumentar o número de visitas destes pacientes aos serviços de saúde (Tarini *et al.*, 2011).

Assim sendo, a detecção precoce das doenças pela triagem neonatal em RNPT e o entendimento dos fatores que influenciam os resultados dos testes de triagem são de extrema importância para a evolução clínica dos pacientes e aconselhamento de suas famílias.

## 1.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Estimar a prevalência de resultados FP e FN nos testes de triagem neonatal biológica para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e HAC em RNPT.

## 1.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- a) Comparar os resultados dos testes de triagem entre os RNPT e recém-nascidos a termo (RNT);
- b) verificar se os resultados FP e FN dos testes de triagem neonatal em RNPT estão associados ao peso de nascimento, à idade gestacional (IG), ao uso de dopamina, ao uso de NPT, à transfusão de hemoderivados e ao uso de corticoide pela mãe ou pelo RN;
- c) avaliar o impacto da coleta precoce e coleta tardia nos resultados dos testes de triagem neonatal biológica;
- d) avaliar a adesão ao protocolo de coleta dos testes de triagem neonatal para RNPT.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 TRIAGEM NEONATAL BIOLÓGICA

O termo triagem significa separação, escolha; ou seja, a triagem neonatal tem o objetivo de separar os RN em dois grupos: aqueles que não tem a doença daqueles que podem ter.

A triagem neonatal iniciou-se em 1963 quando Guthrie e Susi, pesquisadores do Departamento de Pediatria da Escola Estadual de Medicina de Nova York e Hospital de Crianças, desenvolveram um método para estimar a concentração de fenilalanina (FAL) em amostras de sangue coletadas em papel filtro. O objetivo era detectar pacientes fenilcetonúricos, uma doença metabólica hereditária, através de um ensaio microbiológico de inibição bacteriana, tendo como propósito identificar e tratar precocemente estes pacientes, na fase pré-sintomática, para prevenir a deficiência mental (Guthrie e Susi, 1963; Leao e Aguiar, 2008). Pouco tempo depois introduziu-se a triagem neonatal para outras doenças, como o hipotireoidismo congênito na década de 70. Atualmente, nos Estados Unidos, a recomendação é que cada programa de triagem inclua 31 doenças primárias e 26 doenças secundárias no painel de triagem [Advisory Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children (ACHDNC), 2016]. Logo, os Programas de Triagem Neonatal são considerados um dos mais eficazes programas de saúde pública da medicina moderna.

No Brasil, o primeiro programa de triagem neonatal foi implantado na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de São Paulo, em 1976, sob a direção do Dr. Benjamin Schmidt. Inicialmente, a triagem era realizada somente para fenilcetonúria e, posteriormente, incorporou também a triagem para hipotireoidismo congênito. Na década seguinte, outros estados das Regiões Sul e Sudeste, e laboratórios privados também iniciaram projetos para a implantação da triagem neonatal. O Paraná foi um dos pioneiros, com um projeto idealizado pelo Dr. Ehrenfried Wittig, que vigora até os dias de hoje. Com a aprovação do Estatuto da Criança e do Adolescente, em 1990, os testes de triagem neonatal tornaram-se obrigatórios. Mas foi somente em 2001, com a Portaria GM/MS 822/01, do Ministério

da Saúde, que foi determinada a obrigatoriedade do “Teste do Pezinho” em todo o território nacional, e ampliou a triagem neonatal para quatro doenças: fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, hemoglobinopatias e fibrose cística (Brasil. Ministério da Saúde, 2001; Leao e Aguiar, 2008). E em 2012 a triagem para deficiência de biotinidase e HAC foram acrescentadas ao painel de doenças triadas (Brasil. Ministério da Saúde, 2012).

O Estado do Paraná iniciou a triagem neonatal em 1983, inicialmente para fenilcetonúria e posteriormente para hipotireoidismo congênito, em 1990. A triagem para deficiência de biotinidase foi instituída em 1995, e, com a portaria GM/MS 822/01 de 2001, a triagem para hemoglobinopatias e fibrose cística também passaram a fazer parte do painel de doenças. A HAC foi introduzida em agosto de 2013 [Brasil. Ministério da Saúde, 2001; Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE), 2015].

Para que a triagem neonatal seja efetiva é necessário que os testes de triagem tenham uma alta sensibilidade, com raros casos de FN e especificidade razoável, ou seja, poucos casos de FP (Leao e Aguiar, 2008). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda os critérios publicados por Wilson e Jungner para os programas de triagem neonatal:

- a) a condição triada deve ser um importante problema de saúde;
- b) a história natural da doença deve ser bem conhecida;
- c) deve haver um estágio precoce identificável na doença a ser triada;
- d) o tratamento realizado em estágios precoces deve trazer benefícios maiores que o realizado em estágios posteriores;
- e) um teste adequado deve ser desenvolvido para o estágio precoce;
- f) o teste deve ser aceitável pela população;
- g) intervalos para a repetição do teste devem ser determinados;
- h) a provisão dos serviços de saúde deve ser adequada para a carga extra de trabalho clínico resultante da triagem;
- i) os riscos, tanto físicos quanto psicológicos, devem ser menores que os benefícios (Wilson e Jungner, 1968).

A triagem neonatal é mais que a realização de testes laboratoriais, é um

programa de saúde pública, com um sistema complexo, que envolve a coleta e realização dos testes, tanto de triagem quanto diagnósticos, o tratamento e acompanhamento dos pacientes diagnosticados (Leão e Aguiar, 2008).

A primeira etapa do programa tem como objetivo a triagem universal de todos os RN. As famílias devem estar cientes sobre os benefícios da triagem, idade adequada e local para realizar os testes de triagem, e sobre como acompanhar e receber os resultados (Kaye *et al.*, 2006; Leao e Aguiar, 2008). No Brasil, a recomendação é que os testes sejam realizados entre o terceiro e o quinto dia de vida (Leao e Aguiar, 2008). No Estado do Paraná, a recomendação é realizar após 48 horas de vida, antes da alta da maternidade (Paraná. Diário Oficial nº 2667, 1987).

A segunda etapa é denominada de busca ativa, na qual procura-se localizar os RN com resultados alterados para a realização dos testes diagnósticos o mais rápido possível. Na terceira etapa são realizados os testes diagnósticos propriamente ditos e descartados os testes FP. A quarta etapa inclui o tratamento, que na maioria das vezes é por toda a vida, e aconselhamento genético. O acompanhamento é realizado por equipe multidisciplinar nos Serviços de Referência em Triagem Neonatal. A quinta etapa é a avaliação periódica das etapas anteriores, onde são verificados a cobertura populacional, tempos consumidos em cada etapa, a eficácia dos tratamentos e dificuldades encontradas. A sexta etapa engloba a educação dos profissionais de saúde e da população em geral (Kaye *et al.*, 2006; Leao e Aguiar, 2008).

Conforme mais doenças são incluídas nos testes de triagem, mais difícil fica a recomendação para o tempo ideal para realização das coletas dos exames, tendo em vista que cada doença tem o seu melhor “*screening window*” (período entre o qual a substância alterada pode ser detectada no teste e o desenvolvimento dos sintomas), ou seja, a idade ideal para realizar o diagnóstico e tratar a doença antes do aparecimento dos sintomas ou sequelas (Wayne *et al.*, 2009).

A triagem neonatal a partir da matriz biológica, “teste do pezinho”, é um conjunto de ações preventivas, responsável por identificar precocemente indivíduos com doenças metabólicas, genéticas, enzimáticas e endocrinológicas, para que estes possam ser tratados em tempo oportuno, evitando as sequelas e até mesmo a morte. Além disso, propõe o gerenciamento dos casos positivos por meio de monitoramento e

## 2.2 DOENÇAS TRIADAS NO PROGRAMA NACIONAL DE TRIAGEM NEONATAL

### 2.2.1 Fenilcetonúria

A fenilcetonúria é uma doença com herança autossômica recessiva e a maioria dos indivíduos é heterozigoto composto. A prevalência varia de 1:21.000 a 1:13.500. Esta doença é um erro inato do metabolismo causada pela deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase, que é responsável pela metabolização do aminoácido FAL em tirosina. Sua deficiência resulta em acúmulo de FAL no sangue, podendo atravessar a barreira hematoencefálica, e, se acumular também no sistema nervoso central.

No cérebro, o excesso de FAL afeta o transporte de neurotransmissores nas sinapses nervosas, lesiona a barreira de mielina e inibe as enzimas tirosina-hidroxilase e triptofano-hidroxilase. A lesão cerebral se dá por meio do estresse oxidativo e pode causar dano ao ácido desoxirribonucleico, aos lipídios e às proteínas. O excesso de FAL diminui a síntese de proteínas cerebrais ao diminuir a entrada de aminoácidos nos receptores por inibição competitiva. Juntamente com a diminuição da concentração de tirosina, também pode acarretar diminuição da síntese de neurotransmissores, como a serotonina, dopamina e norepinefrina. A baixa concentração de tirosina igualmente diminui a síntese de tiroxina (hormônio tireoidiano) e de melanina. Todo este processo tem como consequência alterações cognitivas e disfunções neurofisiológicas e neuropsicológicas (Kaye *et al.*, 2006; Schuck *et al.*, 2015, Van Wegberg *et al.*, 2017).

O diagnóstico é confirmado pelos níveis de FAL persistentemente elevados no sangue. Se não for diagnosticado precocemente pela triagem neonatal, o paciente fenilcetonúrico começa a apresentar sintomas, em média, a partir dos três meses de idade. Inicialmente ocorre atraso no desenvolvimento psicomotor e padrão errático do sono do lactente, que evolui gradativamente para um quadro de hiperatividade, deficiência mental, epilepsia e comportamento autista. Os pacientes também podem

apresentar odor fétido na urina e no suor, semelhante ao odor da urina de rato. Já as crianças diagnosticadas antes de 30 dias de vida evoluem com a inteligência normal e o quociente de inteligência (QI) é maior quanto mais cedo se inicia o tratamento (Kaye *et al.*, 2006; Wayne *et al.*, 2009). Alguns estudos sugerem que a partir da segunda semana de vida, altos níveis de FAL já podem afetar o desenvolvimento do sistema visual (National..., 2000, 2001). Em pacientes portadores de fenilcetonúria cada quatro semanas de atraso no início do tratamento significa quatro pontos de diminuição do QI na idade adulta (Van Wegberg *et al.*, 2017). E cada 1,7 mg/dL a mais nos níveis de FAL, podem resultar em 1,3 a 3,1 pontos a menos no QI (Waisbren *et al.*, 2007). Assim, a maioria dos *guidelines* recomendam o início do tratamento muito precocemente, no máximo até o 10º dia de vida (National..., 2000, 2001; Van Wegberg *et al.*, 2017).

O tratamento é realizado com um composto de aminoácidos isento de FAL e dieta com baixo teor de FAL durante toda a vida. O objetivo é diminuir as concentrações de FAL para níveis menores que 6 mg/dL o mais rápido possível (Kaye *et al.*, 2006; Van Wegberg *et al.*, 2017). Alimentos ricos em proteína como carnes, leites e derivados, ovos e alguns grãos (feijão, soja, trigo, etc.) devem ser totalmente retirados da dieta. Alimentos com baixo teor de proteína como batata e arroz, por exemplo, podem ser ingeridos em quantidades moderadas, e alimentos com muito pouca quantidade de proteína podem ser ingeridos livremente. Devido à dificuldade de adesão ao tratamento, principalmente em adolescentes e adultos, e ao alto custo dos alimentos, novas terapias têm sido introduzidas para auxiliar o tratamento de pacientes portadores de fenilcetonúria. Os análogos do BH<sub>4</sub>, aminoácidos longos de cadeia neutra e glicomacropéptídeos já estão sendo utilizados. Outros medicamentos, como terapia gênica, terapia enzimática (amônia-liase da fenilalanina), e probióticos para diminuir a absorção e ajudar na degradação da fenilalanina, estão em fase de estudo (Al Hafid e Christodoulou, 2015).

Alguns autores acreditam que o jejum prolongado, comum em RNPT, pode ser causa de resultados FN em pacientes fenilcetonúricos. Daí a recomendação da coleta dos testes de triagem neonatal a partir de 48 horas de vida para garantir ingestão mínima de FAL (Brasil. Ministério da Saúde, 2016). No entanto, Dontanville e Cunningham (1973) já demonstraram, naquela época, que não há relação entre a

quantidade de FAL ingerida pelo RN e a FAL sérica, concluindo que coletas realizadas a partir de 24 horas de vida são capazes de identificar os RN portadores de fenilcetonúria. Ponzzone *et al.* (2008) concluíram que o determinante principal dos quadros de hiperfenilalaninemia é a alta taxa de catabolismo proteico, ao invés da quantidade de FAL ingerida pelo RN.

OS RNPT também podem apresentar um quadro de hiperfenilalaninemia transitória devido à imaturidade de órgãos ou doenças hepáticas. Se estes pacientes não forem diagnosticados corretamente, o tratamento, sem necessidade, pode levar a sintomas como eczemas, pneumonia, irritabilidade e alterações ósseas. Resultados FP também geram mais ansiedade aos familiares (Brosco *et al.*, 2008; Wayne *et al.*, 2009).

O uso de NPT tem sido relatada como possível causa de resultados FP para fenilcetonúria. Lucas *et al.* (1993) demonstraram que RNPT em uso de NPT apresentaram níveis mais elevados de FAL que aqueles que não estavam em uso. Nestes casos é recomendado interrompê-la por 4 a 24 horas para depois realizar a coleta do teste de triagem (Wayne *et al.*, 2009; Harward *et al.*, 2010). Ainda não foi estabelecido se as elevações de FAL são capazes de causar danos cerebrais nos RNPT.

### 2.2.2 Hipotireoidismo congênito

A deficiência dos hormônios da tireoide é a causa mais comum de deficiência mental prevenível, chamada de hipotireoidismo congênito. A incidência varia entre 1:4.000 a 1:3.000 nascidos vivos. Em populações específicas, como no Alaska, a incidência pode chegar a 1:700 nascidos-vivos (Lee *et al.*, 2015). No Brasil a prevalência varia de 1:4.500 a 1:2.500 (Maciel *et al.*, 2013). A incidência também é maior em RNPT (Rastogi e Lafranchi, 2010).

Os sintomas podem aparecer já na gestação, que pode durar mais que 42 semanas (Rastogi e Lafranchi, 2010). Apesar da maioria dos RN serem assintomáticos ao nascimento, cerca de 5% manifestam sintomas no período

neonatal. Os mais comuns são fontanelas amplas, suturas afastadas, choro rouco, macroglossia, distensão abdominal, hérnia umbilical e pele moteada e fria. Eles podem ser grandes para a idade gestacional (GIG) e mais calmos que os demais RN, frequentemente precisam ser acordados para mamar. Mais tarde outros sintomas começam a aparecer, inclusive nos RN assintomáticos ao nascimento. São eles sucção débil, obstipação intestinal, letargia e sonolência. Também podem apresentar hipotonia, reflexos lentos e icterícia prolongada. Cerca de 10% dos RN podem apresentar outras anormalidades congênitas, a mais comum são as cardiopatias congênitas, mas também fenda palatina, malformações dos rins, trato urinário, sistema gastrointestinal e esquelético, problemas auditivos, e também maior associação com Síndrome de Down (Brosco *et al.*, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Rastogi e Lafranchi, 2010; Maciel *et al.*, 2013).

Há uma relação inversa entre o tempo de início do tratamento e as alterações do desenvolvimento neurológico, ou seja, quanto mais tarde o início do tratamento, mais baixo será o QI. Caso não seja tratado precocemente, o paciente pode apresentar alargamento da base nasal, mixedema facial, pseudohipertelorismo dos olhos e ausência da epífise femoral (Kaye *et al.*, 2006; Rastogi e Lafranchi, 2010).

Os hormônios da tireóide são essenciais para a formação cerebral. Eles participam da neurogênese, migração neuronal, diferenciação neuronal e glial, mielinização e sinaptogênese. Sem tratamento os pacientes podem evoluir com deficiência intelectual grave, surdez, ataxia e atraso motor e diplegia espástica de membros inferiores (Bernal, 2000). Na idade adulta, mesmo tratados, pacientes com hipotireoidismo congênito estão mais sujeitos a doenças crônicas, alterações auditivas e visuais, e excesso de peso (Leger *et al.*, 2011).

O hipotireoidismo congênito é classificado como permanente, quando necessita de tratamento por toda vida, ou transitório, que é uma deficiência temporária, com diagnóstico ao nascimento, porém há recuperação da função tireoidiana nos primeiros meses ou anos de vida (Rastogi e Lafranchi, 2010).

Existem várias causas para a doença, entre elas alterações no desenvolvimento da tireoide (ectopia, agenesia e hipoplasia), disormonogênese, resistência ao Hormônio Estimulante da Tireoide (TSH), alterações na produção do TSH (hipotireoidismo central) e resistência periférica aos hormônios da tireoide.

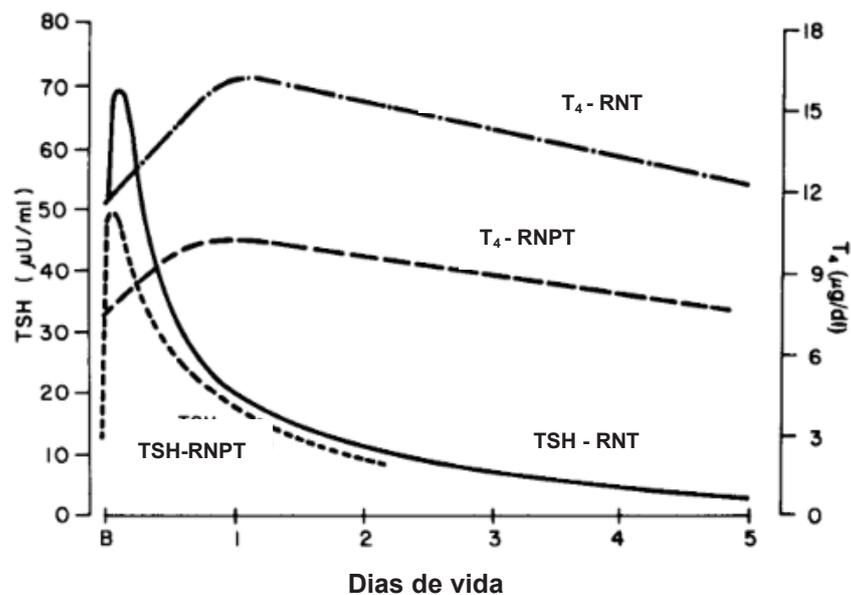
Aproximadamente 85% dos casos são esporádicos e 15% hereditários. Os RN cujas mães têm tireoidite autoimune ou Doença de Graves tratada com drogas antitireoidianas podem apresentar um quadro de hipotireoidismo transitório. Entre as causas externas, a deficiência de iodo em áreas endêmicas é a mais comum, mas RN expostos ao excesso de antissépticos tópicos com iodo e com hemangiomas hepáticos também podem apresentar hipotireoidismo congênito (Kaye *et al.*, 2006; Rastogi e Lafranchi, 2010; Maciel *et al.*, 2013).

A triagem neonatal é realizada pela dosagem do TSH em papel filtro. Todos os RN com o teste de triagem suspeito para hipotireoidismo congênito devem ter o diagnóstico confirmado com a dosagem sérica de tetraiodotironina livre (T<sub>4</sub>L), tetraiodotironina total (T<sub>4</sub>T) e TSH. Os estudos para determinar a etiologia são opcionais ao diagnóstico inicial, já que não irão influenciar no tratamento, mas, se não efetuados neste período, devem ser realizados posteriormente, em outra fase da infância (Kaye *et al.*, 2006; Leger *et al.*, 2014). Recomenda-se a confirmação do diagnóstico no máximo até a segunda semana de vida. Os RN devem ser examinados e submetidos às provas de função tireoidiana no dia ou, no máximo, no dia seguinte ao resultado dos testes de triagem neonatal (Maciel *et al.*, 2013; Leger *et al.*, 2014). O tratamento recomendado é a reposição oral de levotiroxina, na dose 10 a 15µg/kg/dia. O início precoce do tratamento é crucial para o desenvolvimento neuronal e intelectual normais (Leger *et al.*, 2014).

A embriogênese da tireoide se completa entre 10 e 12 semanas de gestação. Nesta fase, já são detectados a presença de T<sub>4</sub>T, T<sub>4</sub>L e TSH, porém a maior parte dos hormônios tireoidianos vem da placenta. Com 22 semanas de IG, a tireoide fetal já é capaz de produzir os hormônios adequadamente. Durante o parto a tireoide aumenta a sua atividade com objetivo de manter a termogênese e a adaptação cardiovascular para a vida extrauterina. Este processo se inicia no hipotálamo ativando o eixo hipotálamo-hipofisário e aumentando as concentrações de TSH, que, 30 minutos após o parto, pode atingir o nível de 60µU/mL, normalizando entre o terceiro e o quinto dia de vida. Logo após o parto há uma diminuição nos níveis de T<sub>4</sub> sérico em RNPT de 23 a 27 semanas de IG, resultado da imaturidade do hipotálamo, hipófise e tireoide, causando um quadro de hipotiroxinemia (Fisher *et al.*, 1970; Ares *et al.*, 1997; Buyukgebiz, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Chung, 2014). O gráfico 1 ilustra os níveis de

TSH e T<sub>4</sub> após o parto no RNPT e RNT.

GRÁFICO 1 – MUDANÇAS NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DO HORMÔNIO ESTIMULANTE DA TIREOIDE E DA TETRA-IODOTIRONINA NOS RECÉM-NASCIDOS A TERMO E PRÉ-TERMO NOS PRIMEIROS CINCO DIAS DE VIDA.



FONTE: Adaptado de Fisher e Klein (1981).

LEGENDA: TSH, hormônio tireoestimulante; T<sub>4</sub>, tetraiodotironina; RNT, recém-nascido a termo; RNPT, recém-nascido pré-termo.

Os RNPT podem apresentar quadro de hipotiroxinemia devido à prematuridade, podendo ser detectada em programas de triagem que utilizam a dosagem de T<sub>4</sub> como marcador para hipotireoidismo congênito. A hipotiroxinemia é caracterizada por baixos níveis de hormônios tireoidianos circulantes e níveis normais de TSH (Ares *et al.*, 1997; Buyukgebiz, 2006; Harward *et al.*, 2010; Chung, 2014; Leger *et al.*, 2014). Outras razões para a hipotiroxinemia são os baixos níveis de TBG (Globulina Ligadora da Tiroxina) e a diminuição da conversão de T<sub>4</sub> em triiodotironina (T<sub>3</sub>). Em RN com síndrome nefrótica, a perda de proteínas pela urina também contribui para os baixos níveis de tiroxina. Igualmente, a diminuição da circulação da tiroxina materna associada ao balanço negativo de iodo em RNPT, pode ser outra causa de hipotiroxinemia, assim como o uso de soluções antissépticas à base de iodo. A

capacidade de captar iodo já é percebida entre 10 e 11 semanas, no entanto, a capacidade da tireoide de reduzir a captação de iodo em função do excesso do mesmo só é possível entre 36 e 40 semanas de gestação (Fisher *et al.*, 1970; Ares *et al.*, 1997; Buyukgebiz, 2006; Fisher, 2008; Wayne *et al.*, 2009; Chung, 2014).

A incidência de hipotireoidismo transitório também é maior nos RNPT. Mengreli *et al.* (2010) encontraram uma frequência de hipotireoidismo transitório em RNPT de 25,8% comparada a 7,5% nos RNT. Srinivasan *et al.* (2012) observaram que RNPT com peso acima de 1.500g também podem apresentar um quadro de hipotireoidismo transitório devido a prematuridade. Lee *et al.* (2015) avaliaram a função tireoidiana de 246 RN com peso abaixo de 1.500g e a incidência de hipotireoidismo foi de 12,2%. O grupo diagnosticado com hipotireoidismo teve o peso menor que o grupo que não precisou de tratamento e os pequenos para IG (PIG) tiveram maior incidência de hipotireoidismo. Os pacientes com hipotireoidismo também permaneceram mais tempo internados.

Kelleher *et al.* (2008) estudaram a influência da suplementação de aminoácidos, principalmente a tirosina (que é um precursor da tiroxina), em RNPT de 23 a 29 semanas de IG e observaram que no 7º dia de vida, tanto os níveis de tiroxina quanto os de tirosina, estavam mais baixos, principalmente nos RNPT com IG entre 23 e 27 semanas, quando comparados com os RNPT de 28 a 29 semanas. Isto aconteceu independentemente da quantidade de aminoácidos suplementados na NPT. Eles concluíram que a suplementação de aminoácidos não influenciou os níveis de tiroxina em RNPT, contudo a IG e o tempo após o nascimento tiveram influência.

O termo hipertireoidotropinemia se refere ao hipotireoidismo congênito compensado no qual o aumento do TSH é moderado e as concentrações dos hormônios tireoidianos estão normais. Também pode ser permanente ou transitória (Chung, 2014). O baixo peso e menor IG podem estar associados ao aumento do TSH (hipertireotropinemia), determinando resultados FP, que diminui conforme aumenta a IG. Nestes casos, os valores de T<sub>4</sub> estão normais. As causas destas alterações ainda não estão bem definidas. É possível que estes RN tenham um hipotireoidismo compensado (Buyukgebiz, 2006; Slaughter *et al.*, 2010).

Os RNPT podem apresentar uma elevação tardia do TSH, definida como uma primeira coleta com resultados normais de TSH e um aumento do TSH detectado em

qualquer coleta subsequente. Não se sabe bem a causa desta situação, pode ser consequência da imaturidade do eixo hipotálamo-hipofisário, supressão do eixo por medicamentos como corticoide, dopamina, ou soluções antissépticas à base de iodo, ou associação com o estresse como sepse, cardiopatia congênita ou pós-operatório (Larson *et al.*, 2003; Kaye *et al.*, 2006; Zung *et al.*, 2017).

Larson *et al.* (2003) encontraram incidência de elevação tardia do TSH em RN com hipotireoidismo congênito e peso menor que 1.500g de 1:400 nascidos-vivos comparado com 1:75.000 quando o peso estava acima de 1.500g. Nestes pacientes a associação com cardiopatia congênita foi de 4%, com transfusão de sangue foi de 66%, com administração de dopamina foi de 3% e exposição a produtos à base de iodo foi de 23%. O aumento do TSH foi detectado em média com 30 dias de vida (variando de 11 a 176) (Larson *et al.*, 2003).

Silva *et al.* (2010) estudaram cerca de 2.600 prematuros com IG menor que 32 semanas, no estado de Minas Gerais, e verificaram prevalência de 1:91 de elevação tardia do TSH nesta população; a média de idade em que esta alteração foi encontrada foi de 33 dias. Onze pacientes iniciaram tratamento para hipotireoidismo no período, destes, 90% apresentaram elevação tardia do TSH. A média de idade para início do tratamento foi de 43 dias.

O uso de dopamina no período neonatal suprime a produção de TSH causando resultados FN para hipotireoidismo congênito. Nova coleta dos testes de triagem deve ser realizada após parar a infusão de dopamina (Buyukgebiz, 2006; Wayne *et al.*, 2009). Ao estudar prematuros com IG menor que 32 semanas e peso de nascimento menor 1500g, Filippi *et al.* (2004) encontraram relação dose-dependente entre a infusão de dopamina e baixos níveis de T<sub>4</sub> e TSH. O estudo sugeriu que a dopamina influenciou mais os níveis de T<sub>4</sub> e TSH que a prematuridade. Os autores também citaram um possível rebote com aumento dos níveis plasmáticos de TSH após o término da infusão de dopamina, podendo causar resultados FP para hipotireoidismo congênito.

O uso de corticosteroide pelo RN também afeta o eixo hipotálamo-hipofisário, inibindo a secreção de TSH, reduzindo o T<sub>4</sub> livre e a TBG, diminuindo a conversão de T<sub>4</sub> em triiodotironina (T<sub>3</sub>) e aumentando a excreção renal de iodo. A metoclopramida, aminofilina e cafeína também influenciam no aumento da secreção de TSH

(Buyukgebiz, 2006; Fisher, 2008; Wayne *et al.*, 2009; Srinivasan *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2015).

### 2.2.3 Deficiência de biotinidase

A biotinidase é uma enzima responsável pela reciclagem da biotina, separando esta última de proteínas às quais está ligada, tornando possível sua utilização na forma ativa. Esta enzima é sintetizada no fígado, também está presente nas secreções do pâncreas e do intestino, e na membrana das vilosidades intestinais. Já a biotina é uma vitamina do complexo B que atua como coenzima de quatro ciclos de carboxilases humana. Sua homeostase é crucial para a manutenção de várias funções orgânicas, em especial do cérebro e do músculo cardíaco (Zempleni *et al.*, 2008).

A deficiência de biotinidase foi descrita, primeiramente, por Wolf em 1983. É uma doença autossômica recessiva e o gene que codifica a enzima está localizado no gene *BTD*, localizado no cromossomo 3p25. Sua incidência varia entre 1:120.000 a 1: 60.000 (Kaye *et al.*, 2006). No Brasil, a incidência varia de 1:6.800 a 1:62.500, sendo que a forma parcial é a mais comum (Borsatto *et al.*, 2014). A deficiência de biotinidase é classificada em profunda ou parcial conforme a quantidade de atividade da biotinidase. Na forma profunda a atividade é menor que 10% e na parcial encontra-se entre 10 e 30% (Kaye *et al.*, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Wolf, 2010).

No Estado do Paraná, a triagem neonatal se iniciou no ano de 1996. A prevalência no Estado do Paraná no ano de 2015 foi de 1:16.000 (Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE), 2016).

Os sintomas são os mesmos descritos nas alterações do ciclo das carboxilases e podem aparecer desde as primeiras semanas de vida até a adolescência, sendo que a maioria dos indivíduos apresenta os primeiros sintomas entre três e seis meses de idade, enquanto alguns pacientes podem chegar à vida adulta sem apresentar sintomas. Especula-se que as apresentações com início precoce são devido às mutações do gene *BTD*, enquanto as de início tardio decorrem

da diminuição da excreção da biotinidase no lúmen intestinal (Zempleni *et al.*, 2008). O quadro clínico inclui manifestações do sistema nervoso central, como convulsões e hipotonia, eczemas, alopecia e conjuntivite. Se não forem tratados, podem apresentar atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, letargia, ataxia, perda auditiva neurosensorial, neurite óptica, problemas respiratórios, hepatoesplenomegalia, coma, acidose láctica, acidúria orgânica e hiperamoniemia moderada, levando ao coma ou até ao óbito. Os sintomas de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, perda auditiva e atrofia óptica são irreversíveis, mesmo após a instituição do tratamento (Kaye *et al.*, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Wolf, 2010).

O tratamento consiste na administração de biotina na dose de 5 a 20mg ao dia, e possibilita a prevenção total do aparecimento dos sintomas. Todos os pacientes com a forma profunda de deficiência de biotinidase devem receber tratamento. Para a forma parcial ainda não há um consenso sobre o tratamento (Wolf, 2010; Borsatto *et al.*, 2014).

A triagem neonatal possibilita o diagnóstico e tratamento precoces, antes do aparecimento dos primeiros sintomas. É realizado um teste qualitativo ou semiquantitativo da atividade da biotinidase em papel filtro. O diagnóstico é confirmado com a dosagem quantitativa da atividade de biotinidase no plasma.

Em geral a atividade da biotinidase não varia com a idade, no entanto, pode estar um pouco diminuída em RN nas primeiras semanas de vida, principalmente em RNPT. Este fenômeno ocorre devido à imaturidade hepática desta população, o que leva a resultados FP na triagem neonatal. Um RNT apresenta cerca de 50 a 70% da atividade da biotinidase de um adulto. Já um RNPT de 24 semanas de IG apresenta atividade enzimática de 25%. Slaughter *et al.* encontraram taxa de resultados FP para deficiência de biotinidase de 1,2% em RN com peso de nascimento menor que 1.000g comparada a 0,6% em RN com peso de nascimento entre 2.500g a 3.500g. Suormala *et al.* encontraram correlação entre a IG e a atividade da biotinidase. Em alguns RN com IG menor que 33 semanas a atividade da biotinidase ficou entre 4,7% e 8% da média dos adultos (valor de referência: maior que 30% da média dos adultos), podendo levar a resultados FP nos testes de triagem neonatal. Recém-nascidos ictericos ou com doenças hepáticas também cursam com diminuição da atividade da biotinidase (Suormala *et al.*, 1988; Wayne *et al.*, 2009; Slaughter *et al.*, 2010; Wolf,

2010; Borsatto *et al.*, 2014).

A atividade da biotinidase é determinada no soro ou plasma, o que dificulta a confiabilidade do resultado em RN transfundidos. O resultado é menos confiável quando a transfusão realizada é de sangue total ou plasma. Porém, mesmo a transfusão de concentrado de hemácias pode conter um pouco de plasma e o resultado deve ser desconsiderado. Há recomendação de nova coleta em 2 meses, mas não há estudos que determinem a melhor data para recoletar o exame (Wayne *et al.*, 2009; Harward *et al.*, 2010; Wolf, 2010).

#### 2.2.4 Hiperplasia Adrenal Congênita

A Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) é um erro inato do metabolismo dos esteroides adrenais. A forma mais comum é a deficiência de 21-hidroxilase (21-OH). O diagnóstico e tratamento precoces são essenciais para a prevenção da mortalidade nas primeiras semanas de vida. A incidência mundial varia entre 1:21.000 a 1:5.000, em estados como o Alaska pode ser de 1:282 (Kaye *et al.*, 2006). No Brasil a incidência estimada varia de 1:7.500 a 1:20.000 (Barra *et al.*, 2012).

A deficiência da 21-OH leva à deficiência de cortisol, tendo como consequência o aumento da secreção de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), que por sua vez estimula o aumento dos precursores da 21-OH como a 17-OH-progesterona (17-OHP). Como estes precursores não podem ser metabolizados em cortisol e aldosterona, há um desvio para a produção de hormônios andrógenos, resultando na virilização da genitália de fetos do sexo feminino. No que lhe concerne, a deficiência de aldosterona é responsável pela crise de perda de sal (Kaye *et al.*, 2006; Torresani e Biason-Lauber, 2007).

As manifestações dependem da forma clínica da doença, que pode ser perdedora de sal, virilizante simples ou não clássica. Em geral, as manifestações refletem a severidade da deficiência da aldosterona e cortisol e estão relacionadas ao grau de deficiência da 21-OH (El-Maouche *et al.*, 2017).

Na forma perdedora de sal a atividade da enzima é praticamente inexistente e a principal característica, além da falta de cortisol, é a deficiência de aldosterona.

Uma vez que esta regula a homeostase de sódio, sua ausência leva à excreção excessiva de sódio pelos rins e intestino, tendo como consequência hipovolemia e hiponatremia, manifestada como desidratação. Há retenção de potássio, resultando em hipercalemia. A falta de cortisol contribui para diminuição da função cardíaca, diminuição da resposta vascular a catecolaminas, diminuição da filtração glomerular e aumento da secreção do hormônio antidiurético, causando choque hipovolêmico e hiponatrêmico. Os sintomas nas primeiras semanas de vida são sucção débil, vômitos, diarreia, baixo ganho de peso, choro fraco, letargia e desidratação. Se não tratados precocemente, estes RN podem evoluir para choque hipovolêmico e óbito, sendo que a mortalidade pode chegar a 12%. Pacientes do sexo feminino podem apresentar distúrbios do desenvolvimento sexual, com órgãos internos normais e genitália externa virilizada, o que facilita o diagnóstico no período neonatal. No entanto, RN do sexo masculino e alguns do sexo feminino podem não ser diagnosticados clinicamente até apresentarem uma crise adrenal, com perda de sal. Cerca de 75% dos pacientes não tratados evoluem com uma crise adrenal no primeiro mês de vida (Torresani e Biason-Lauber, 2007; El-Maouche *et al.*, 2017).

As formas virilizante simples são caracterizadas por muito pouca atividade da 21-OH (1 a 2%) e produção mínima de aldosterona, o que previne a perda de sal. As manifestações clínicas podem ser a virilização da genitália em pacientes do sexo feminino e sinais de hiperandrogenismo. O sexo pode ser identificado incorretamente e, se não diagnosticadas e não tratadas, podem evoluir com puberdade precoce e baixa estatura devido à aceleração da maturação óssea (Torresani e Biason-Lauber, 2007; El-Maouche *et al.*, 2017).

A atividade da 21-OH nas formas não clássicas está entre 20 e 50%. A quantidade de cortisol produzida não é suficiente para inibir a secreção de ACTH e, conseqüentemente, há um excesso de hormônios androgênicos. Os pacientes não apresentam sintomas no período neonatal, mas somente na infância ou adolescência, caracterizados por hirsutismo, pubarca precoce, acne, alterações menstruais, infertilidade e baixa estatura na vida adulta. Normalmente as formas não clássicas não são detectadas pela triagem neonatal (Kurtoglu e Hatipoglu, 2017).

O diagnóstico é confirmado com a dosagem sérica de 17-OHP, testosterona

e androstenediona, que devem estar aumentados. A dosagem de sódio e potássio também está indicada para diferenciar a forma perdedora de sal. Em alguns casos pode ser necessário também realizar dosagem da atividade da renina plasmática e da aldosterona. Para os casos em que há dúvida do diagnóstico ou nas formas tardias, o teste de estímulo com ACTH e avaliação genético-molecular podem ser úteis (Speiser *et al.*, 2010; Ishii *et al.*, 2015).

O tratamento envolve a reposição de cortisol e de um análogo dos mineralocorticoides, manutenção do balanço hídrico e da concentração dos eletrólitos e correção do distúrbio da diferenciação sexual, o mais precoce possível. O tratamento tem por objetivo prevenir a crise de perda de sal, garantir crescimento normal com maturação óssea adequada e desenvolvimento sexual normal. Nos casos de estresse, como infecção por exemplo, as doses das medicações devem ser triplicadas e os pacientes avaliados constantemente para prevenção de choque (Kaye *et al.*, 2006; Tajima e Fukushi, 2016).

A triagem neonatal é realizada pela determinação da 17-OHP. Com a triagem neonatal é possível o realizar o diagnóstico precoce, prevenir a crise perdedora de sal, evitar o choque hipovolêmico e o óbito, permitir a determinação correta do sexo nas formas virilizantes e prevenir a puberdade precoce, que leva à baixa estatura e possíveis distúrbios sexuais em meninos e meninas. O sangue deve ser coletado em papel filtro a partir do terceiro dia de vida. Amostras coletadas após sete dias de vida reduzem o benefício da triagem, pois atrasam o diagnóstico da doença e podem resultar na crise perdedora de sal, que costuma ocorrer na segunda semana de vida. Já as coletadas precocemente (antes do terceiro dia de vida) podem resultar em altos índices de FP. Uma vez que haja suspeita da doença, é necessária avaliação imediata do RN e coleta sérica de eletrólitos e 17-OHP para confirmação do diagnóstico.

Na triagem para HAC os RNPT apresentam níveis mais altos de 17-OHP que os RNT, o que leva a altas taxas de FP. O baixo peso é igualmente associado a taxas mais elevadas de 17-OHP. Isto ocorre devido à imaturidade da glândula adrenal e também devido a doenças próprias dos prematuros que levam ao maior nível de estresse. Da mesma forma, altos níveis de ACTH e imaturidade renal são responsáveis pelos altos níveis de 17-OHP (Balk, 2007; Slaughter *et al.*, 2010; Ryckman *et al.*, 2012). Para diminuir as taxas de FP os programas de triagem neonatal

têm utilizado valores de referência baseados no peso e na IG (Torresani e Biason-Lauber, 2007).

A glândula adrenal do feto é composta por uma zona fetal, uma zona de transição e uma zona definitiva. A zona fetal produz androgênios, a de transição produz cortisol e a definitiva produz os mineralocorticoides. Os esteroides produzidos pela adrenal fetal têm por objetivo manutenção da gestação, homeostase intrauterina, maturação fetal e início do trabalho de parto. Logo após o nascimento, a zona fetal involui rapidamente até o seu desaparecimento. Antes de 30 semanas de IG, a adrenal não é capaz de produzir cortisol adequadamente e 1/3 dele provém da placenta. Nos RNPT a zona fetal é aumentada quando comparada com os RNT (King *et al.*, 2001; Chung, 2014).

A triagem neonatal para HAC tem baixo valor preditivo positivo, com muitos casos de resultados FP, principalmente em RNPT, consequência da reação cruzada com outros corticosteroides diferentes da 17-OHP e do estresse neonatal (Kaye *et al.*, 2006; Torresani e Biason-Lauber, 2007; Coulm *et al.*, 2012).

Gidlöf *et al.* (2014), ao publicar um estudo de 26 anos do programa de triagem neonatal para HAC na Suécia, relataram taxa de reconvocação para um segundo teste de triagem de 0,57% em RNPT e de 0,03% em RNT. O valor preditivo positivo foi diretamente correlacionado à IG. Os valores encontrados foram de 1,4% em RNPT e de 25,1% em RNT. Para Tsuji *et al.* (2015), o valor preditivo positivo em RNPT foi de 2% quando comparado a 33,3% nos RNT. Coulm *et al.* (2012) realizaram um estudo epidemiológico onde analisaram cerca de 6 milhões de neonatos triados para HAC. Encontraram um valor preditivo positivo de somente 0,4% em RNPT e de 30,1% em RNT. A taxa de resultados FP em RNPT foi de 90,9% e o valor preditivo negativo de 99,9%.

Em um estudo prospectivo Chennuri *et al.* (2013) encontraram uma média de 17-OHP sérica significativamente maior em RN com estresse neonatal com aspiração de mecônio, sepse e asfixia perinatal. A 17-OHP também estava significativamente mais elevada no grupo de RNPT e com peso menor que 1.500g. Ryckman *et al.* (2012) encontraram níveis maiores de 17-OHP em RNPT com síndrome do desconforto respiratório, independente da IG ou peso de nascimento.

O uso de corticoide pré e/ou pós-natal pode determinar resultados FN para

HAC. O uso de corticoide pode inibir o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, diminuindo os níveis de 17-OHP. O uso de dexametasona neonatal resulta em valores normais de 17-OHP nos testes de triagem. A gestante pode usar corticoide em várias situações como asma e doença reumática. O mais comum é o uso de betametasona, em casos de trabalho de parto prematuro, com o objetivo de amadurecimento pulmonar do feto e prevenção de hemorragia cerebral (Olgemoller *et al.*, 2003; Gatelais *et al.*, 2004; Wayne *et al.*, 2009; Chung, 2014). Com a finalidade de evitar possíveis resultados FN na triagem neonatal, é recomendado uma segunda coleta do teste 15 dias após o uso do corticoide pela mãe (Wayne *et al.*, 2009).

King *et al.* (2001) ao estudar RN com peso menor que 2.500g, não encontraram diferença nos níveis de 17-OHP entre os RN que utilizaram e os que não utilizaram corticoide pré-natal. Nordenstrom *et al.* (2001), ao estudar em RNPT, também não encontraram diferença. Contudo, eles relataram um caso de gêmeos monozigóticos que apresentaram níveis diferentes de 17-OHP nos testes de triagem neonatal. Um deles somente foi diagnosticado porque a triagem do irmão veio positiva para HAC. Eles atribuíram o fato ao uso de corticoide pré-natal e a diferente resposta ao uso do corticoide que varia de indivíduo para indivíduo.

Gatelais *et al.* (2004) estudaram o efeito do corticoide pré-natal em 160 prematuros com IG entre 25 e 35 semanas. Os níveis de 17-OHP diminuíram quando a betametasona foi utilizada em múltiplas doses (dose total recebida maior que 48mg). Os RNPT que receberam somente uma dose de 12mg de betametasona ou que receberam duas doses de 12mg cada, não apresentaram diferença com o grupo que não recebeu corticoide pré-natal. O retardo de crescimento intrauterino, igualmente, se correlacionou negativamente com os níveis de 17-OHP, sugerindo que possa estar relacionada a resultados FN nos testes de triagem neonatal. Já a síndrome do desconforto respiratório se correlacionou positivamente com a 17-OHP, sugerindo resultados FP. A idade gestacional também foi inversamente proporcional aos níveis de 17-OHP, no entanto, não houve diferença entre os grupos em relação ao peso.

### 2.3 PREMATURIDADE E A TRIAGEM NEONATAL

Todo bebê que nasce com IG menor que 37 semanas é considerado prematuro e é considerado de baixo peso quando pesa menos que 2.500g (Matijasevich *et al.*, 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), nascem cerca de 15 milhões de prematuros por ano no mundo. No Brasil, a taxa de prematuridade é de 11,5% e 8% dos bebês nascem com baixo peso, o que o classifica como o décimo país do mundo em taxa de prematuridade [Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), 2013; Leal *et al.*, 2016]. No entanto, estes dados são subestimados, tendo em vista que a informação coletada na Declaração de Nascido Vivo, referente à IG, não é padronizada, podendo ser utilizados diversos métodos de avaliação como a data da última menstruação, ultrassom obstétrico ou exame físico do RN.

Matijasevich *et al.* (2013) encontraram no Brasil no período de 2009 a 2011 prevalência estimada de prematuridade de 11,8% dos nascidos-vivos com tendência de aumento de 0,1 % ao ano. A prevalência foi maior nas regiões Sul e Sudeste.

A melhoria dos cuidados intensivos neonatais tem proporcionado maior taxa de sobrevivência dos RNPT, sendo esta, em países desenvolvidos, maior que 96% para RNPT com IG superior a 28 semanas (Bettioli *et al.*, 2010). Alguns tratamentos corriqueiros em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), como transfusões de sangue, administração de antibióticos, jejum prolongado, NPT, soluções heparinizadas e exposição de corticoide pré e pós-natal, podem interferir nos resultados dos exames da triagem neonatal. A própria imaturidade de órgãos e do sistema endócrino dos RNPT também interfere nos resultados. Algumas condições maternas como hiper ou hipotireoidismo ou uso de esteroides, igualmente podem afetar o resultado dos testes. Desse modo, observa-se que cerca de 10% a 40% dos resultados FP ou FN da triagem neonatal são de RN internados em UTIN (Balk, 2007; Wayne *et al.*, 2009; Harward *et al.*, 2010; Slaughter *et al.*, 2010).

Em um estudo de coorte retrospectivo, Slaughter *et al.* (2010) avaliaram as taxas de resultados FP para os testes de triagem neonatal e compararam com o peso e IG. A taxa de FP encontrada foi inversamente proporcional ao peso de nascimento. Para os testes de hipotireoidismo congênito e HAC a taxa de FP foi 12 vezes maior nos RNPT com peso de nascimento menor que 1.500g. A dosagem de TSH e 17-OHP foram responsáveis por 62% destas taxas na população estudada. Os RN com peso

menor que 1.500g também mostraram mais resultados FP para fenilcetonúria. Quanto à IG, as dosagens de FAL, TSH, 17-OHP e Tripsina Imunorreativa (marcador utilizado na triagem da fibrose cística), igualmente apresentaram taxa de FP maior e inversamente proporcional à IG, com exceção dos RN pós-termo (IG maior ou igual a 42 semanas), que também apresentaram taxa de resultados FP mais elevada.

Zafanello *et al.* (2003) encontraram um risco 4,2% maior de resultados FP para cada 100g de peso a menos do RN e de 39% para cada semana a menos de IG.

Como as doenças triadas são graves e o atraso ou falta de diagnóstico pode resultar em sequelas graves ou morte, um protocolo para coleta em prematuros reduz o risco de perda de diagnóstico nesta população, além de reduzir custos com os possíveis tratamentos das sequelas das doenças. Este protocolo deve otimizar as coletas nesta população, contemplando o menor número de coletas em tempo hábil para o diagnóstico precoce destas doenças e minimizando possíveis resultados FN e FP (Harward *et al.*, 2010).

Não há um consenso sobre um protocolo de coleta dos testes de triagem neonatal para RNPT. Nos Estados Unidos, a maioria dos estados utiliza um protocolo de três coletas: ao nascimento, com 48 a 72 horas de vida e na terceira semana de vida. No entanto, há uma variação grande entre as datas de recomendação, principalmente da terceira coleta (Wayne *et al.*, 2009). Na Nova Inglaterra a recomendação para todos RN com peso de nascimento menor que 1.500g é uma coleta entre 48-72 horas, ou antes, se houver transfusão de hemoderivados ou transferência para outro hospital e a repetição da coleta com 2, 6 e 10 semanas ou até que o peso ultrapasse 1.500g (Larson *et al.*, 2003).

A recomendação atual do Ministério da Saúde é a coleta do teste de triagem para RN com IG menor que 32 semanas ou peso menor que 2.000g ao internar na UTIN, a segunda coleta entre o segundo e o quinto dia de vida e a terceira coleta com 28 dias de vida ou na alta da UTI, o que vier antes (Brasil. Ministério da Saúde, 2016). No Estado do Paraná, desde o ano de 2012, é recomendado para RN com IG menor que 37 semanas ou peso menor que 1.500g a primeira coleta entre o segundo e o quinto dia de vida, ou antes se houver transfusão ou transferência deste RN, e a segunda coleta entre 20 e 45 dias de vida. Em casos de transfusão de hemoderivados é recomendado coletar antes da primeira transfusão e outra coleta 5 dias após a

transfusão. Se não houver coleta antes da primeira transfusão é necessário coletar 5 dias após a transfusão e outra coleta 90 dias após a última transfusão, além das coletas recomendadas [Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE), 2013]. O Esquema de Coleta para o “Teste do Pezinho” está descrito no Anexo 1.

No Brasil, há poucos estudos sobre a triagem neonatal em prematuros. Sendo uma população que vem aumentando constantemente, com sobrevida crescente devido ao advento das UTIN, e o diagnóstico precoce das doenças triadas extremamente necessário, justifica-se um estudo epidemiológico para análise de resultados e avaliação do protocolo de coleta dos testes de triagem neonatal biológica utilizado no Estado do Paraná.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 TIPO DE ESTUDO**

Foi realizado um estudo observacional, analítico, transversal, com coleta de dados prospectiva.

#### **3.2 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO**

O estudo foi conduzido na Universidade Federal do Paraná (UFPR) em parceria com a FEPE. Os dados foram coletados em todos os hospitais e maternidades de Curitiba em que há atendimento a RN de médio ou alto risco e que concordaram em participar do estudo durante o período hábil de março a dezembro de 2015. Um hospital foi excluído do estudo pois o termo de concordância foi assinado somente um mês antes do término da coleta de dados.

#### **3.3 CASUÍSTICA**

Segundo a Organização Mundial da Saúde nascem no mundo cerca de 15 milhões de prematuros por ano [Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), 2013]. Os dados da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná (SESA) indicam que, no período estudado, nasceram 10.744 RNPT no Estado do Paraná. Em Curitiba, no mesmo período, este número foi de 2.387 RNPT (Secretaria Estadual de Saúde do Paraná (SESA), 2015).

#### **3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Foram incluídos todos os RN que coletaram o “Teste do Pezinho” nas maternidades que participaram do estudo. Os RN deveriam ter nascido em Curitiba, nos Hospitais e Maternidades nos quais há atendimento a RN de médio ou alto risco. Foram analisados os resultados dos testes de triagem para as doenças cujos testes diagnósticos são realizados na Unidade de Endocrinologia Pediátrica (UEP) da

Universidade Federal do Paraná e no Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Paraná (SRTN-PR) da FEPE. Sendo assim, as doenças analisadas foram fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e HAC.

### 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- a) RN que não tiveram a IG informada na ficha de coleta do “Teste do Pezinho”;
- b) RN com a primeira coleta viável realizada com mais de 20 dias de vida.

### 3.6 POPULAÇÃO DE ESTUDO

De acordo com os critérios de inclusão e exclusão, participaram do estudo 1.753 RNPT e 18.028 RNT.

### 3.7 HIPÓTESE DE ESTUDO

H0: As taxas de FP e FN nos Testes de Triagem Neonatal Biológica em RNPT em Curitiba não são maiores que nos RNT.

H1: As taxas de FP e FN nos Testes de Triagem Neonatal Biológica em RNPT em Curitiba são maiores que nos RNT.

### 3.8 VARIÁVEIS DE ESTUDO

#### 3.8.1 Variáveis dependentes

As variáveis dependentes foram os resultados FP, FN, verdadeiro-positivo (VP) e verdadeiro-negativo (VN) dos Testes de Triagem Neonatal Biológica. Também os resultados de FAL, TSH, atividade de biotinidase e 17-OHP.

#### 3.8.2 Variáveis independentes

As variáveis independentes foram a IG, o peso no momento da coleta e a idade na coleta.

### 3.8.3 Variáveis interferentes

As variáveis interferentes do estudo foram o uso de corticoide no pré-natal, transfusão de hemoderivados e jejum prolongado (RN que não recebeu alimentação até o momento da coleta do teste de triagem).

## 3.9 PROCEDIMENTO DE PESQUISA

Foi realizada visita aos hospitais e maternidades de Curitiba, pela pesquisadora, para esclarecimentos sobre o esquema de coleta do Teste do Pezinho (Anexo 1), apresentação do projeto de pesquisa e assinatura da Carta de Concordância em participar do estudo pelos responsáveis técnicos das entidades (Apêndice 1).

Os enfermeiros e técnicos de enfermagem das maternidades coletaram as assinaturas dos responsáveis no termo informativo, anexo à ficha de coleta do “Teste do Pezinho” (Anexo 2), realizaram a coleta do sangue em papel filtro por punção de calcâneo ou por punção venosa, conforme orientação do Manual de Coleta do Teste do Pezinho [Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE), 2013] e preencheram a ficha de coleta do “Teste do Pezinho” (Anexo 2). As fichas de coleta do “Teste do Pezinho” e o papel filtro foram enviados à FEPE através dos Correios, conforme logística já estabelecida.

Os resultados foram analisados pelo laboratório da FEPE, de acordo com os métodos e protocolos da instituição. As doenças analisadas no estudo foram fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e HAC. Foram analisados dados como sexo, raça, peso no momento da coleta, idade cronológica, idade gestacional, alimentação, transfusão de hemoderivados, valor de FAL, valor TSH, atividade da biotinidase e valor de 17-OHP. Estes dados foram obtidos do sistema FEPE, através de ampla pesquisa por meio do nome da mãe, número da declaração de nascido vivo e a data de nascimento nos dados de 2015 e de 2016. Os

resultados foram comparados com os resultados dos testes de triagem realizados nos RNT que nasceram nas maternidades que participaram do estudo no mesmo período. Estes dados foram disponibilizados pela FEPE. Para os RNPT, dos quais não foi localizada a segunda coleta em um período de quatro meses após o nascimento, foi enviada um comunicado da instituição com assinatura da pesquisadora informando sobre a importância de realizar mais uma coleta no RN, e solicitando que procurassem uma unidade básica de saúde próxima de casa (Apêndice 2).

Foram incluídos os resultados das duas primeiras coletas viáveis realizadas nestes RNPT, sendo que a primeira coleta deve ter sido realizada no máximo até 20 dias de vida do RN. A segunda coleta foi considerada quando realizada no mínimo após o 15º dia de vida. A segunda coleta foi analisada somente para os RNPT.

Os resultados dos testes foram classificados como positivos ou negativos de acordo com o valor de corte para cada doença (Quadro 1 e 2). Os casos positivos foram reconvocados pelo Serviço Social da FEPE, para recoletar o teste de triagem ou para consulta e coleta de exames confirmatórios, conforme fluxograma estabelecido pelo SRTN-PR (Anexos 3 a 8). Os pacientes com suspeita de fenilcetonúria e deficiência de biotinidase foram encaminhados para exames confirmatórios no ambulatório do SRTN-PR (FEPE) e os pacientes com suspeita de hipotireoidismo congênito e HAC foram encaminhados para exames confirmatórios na UEP (UFPR). Nos casos que os RN estavam impossibilitados de comparecer à consulta devido à internação, foi realizado, pelo médico da FEPE, contato com o médico assistente, e orientado coleta de exames no hospital onde encontravam-se internados. As doenças foram consideradas confirmadas conforme os critérios do Quadro 3.

Os testes de triagem podem ser considerados como positivos ou negativos e a doença pode estar presente ou ausente. Sendo assim, há quatro possibilidades de combinação entre os resultados dos testes e a confirmação ou não da doença (Figura 1). Os resultados foram classificados como VP (doença confirmada pelos testes de confirmação diagnóstica), FP (doença não confirmada em testes posteriores de triagem ou de confirmação diagnóstica), VN (doença descartada em um teste de triagem neonatal para os RNT e em dois testes de triagem para os RNPT) e FN (doença não detectada nos testes de triagem neonatal e confirmada em testes

posteriores de confirmação diagnóstica). Os testes de triagem dos RNT foram considerados como VN com somente um teste negativo para as doenças pesquisadas. Os RNPT com somente um teste de triagem negativo não foram classificados.

QUADRO 1 – CRITÉRIOS DE POSITIVIDADE DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA, HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO E DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE

| Doença                     |                                                                                  |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Fenilcetonúria             | FAL $\geq$ 3mg/dL                                                                |
| Hipotireoidismo Congênito  | 0 a 48h de vida: TSH $\geq$ 15uU/mL<br>48h a 6 meses de vida: TSH $\geq$ 10uU/mL |
| Deficiência de Biotinidase | Atividade da biotinidase: inativa ou parcialmente ativa                          |

FONTE: FEPE (2015).

LEGENDA: FAL, fenilalanina; TSH, hormônio estimulante da tireoide.

QUADRO 2 – CRITÉRIOS DE POSITIVIDADE DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA DE ACORDO COM O PESO DO RECÉM-NASCIDO

| Classificação do peso do recém-nascido |                                     |                                       |                                        |
|----------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| < 1.500g                               | 1.501g – 2.000g                     | 2.001g – 2.500g                       | > 2.501g                               |
| 1ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 110ng/mL   | 1ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 43ng/mL | 1ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 28,2ng/mL | 1ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 15,01ng/mL |
| 2ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 135ng/mL   | 2ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 53ng/mL | 2ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 32ng/mL   | 2ª coleta:<br>17-OHP $\geq$ 17ng/mL    |

FONTE: FEPE (2015).

NOTA: Os valores de corte para HAC correspondem ao 99º percentil de normalidade de acordo com o peso (Hayashi *et al.*, 2011).

LEGENDA: 17-OHP, 17-hidroxiprogesterona.

Para fins de análise estatística os RN foram classificados pelo peso pela pesquisadora como baixo peso extremo (BPE) (<1.000g), muito baixo peso (MBP) (1.000 a 1.500g), baixo peso moderado (BPM) (1.500 a 2.499g), peso adequado (PA) (2.500 a 3.999g) e excesso de peso (EP) (> 4.000g).

Os RN foram classificados em RNPT (IG  $\leq$  36 semanas e 6 dias) e RNT (IG  $\geq$  37 semanas). Os RNPT foram classificados pela IG, conforme classificação da OMS, em prematuro extremo (PE) ( $\leq$  28 semanas), muito prematuro (MP) (28 semanas e 1 dia a 32 semanas e 6 dias) e prematuro moderado (PM) (33 semanas a 36 semanas e 6 dias) (Leal *et al.*, 2016). Os demais RN foram classificados de acordo com a idade gestacional em RNT (37 semanas a 41 semanas e 6 dias) e RN pós termo (> 42

semanas). E ainda foram classificados como PIG, adequados para a idade gestacional (AIG) e grandes para a idade gestacional (GIG) de acordo com a curva para prematuros de Fenton (Fenton e Kim, 2013).

QUADRO 3 – CRITÉRIOS DE CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO PARA FENILCETONÚRIA, HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO, DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE E HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

| DOENÇA                        | CRITÉRIO                                                                                                                                         |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fenilcetonúria                | FAL em papel filtro $\geq 10\text{mg/dL}$ ou FAL em papel filtro entre 8 e $10\text{mg/dL}$ em três semanas consecutivas                         |
| Hipotireoidismo Congênito     | TSH sérico $> 10\text{uU/mL}$ e $\text{T}_4\text{L}$ ou $\text{T}_4\text{T}$ diminuídos ou normais                                               |
| Deficiência de Biotinidase    | Atividade quantitativa da biotinidase no plasma $< 30\%$ da média da população adulta                                                            |
| Hiperplasia Adrenal Congênita | $17\text{-OHP}$ sérica, androstenediona e testosterona aumentadas de acordo com os valores de referência dos laboratórios onde foram analisados. |

FONTE: FEPE/UEP (2015).

LEGENDA: FAL, fenilalanina; TSH, hormônio estimulante da tireoide;  $\text{T}_4\text{L}$ , tetraiodotironina livre;  $\text{T}_4\text{T}$ , tetraiodotironina total;  $17\text{-OHP}$ , 17-hidroxiprogesterona.

FIGURA 1 – POSSIBILIDADE DE RESULTADOS DOS TESTES DE TRIAGEM DE ACORDO COM O ESTADO DA DOENÇA

|       |          | DOENÇA              |                     |
|-------|----------|---------------------|---------------------|
|       |          | PRESENTE            | AUSENTE             |
| TESTE | POSITIVO | Verdadeiro-positivo | Falso-positivo      |
|       | NEGATIVO | Falso-negativo      | Verdadeiro-negativo |

FONTE: Adaptado de Bonita R. *et al* (2010).

Foi considerada coleta precoce quando a primeira coleta foi realizada com menos de 48 horas de vida e tardia quando a primeira coleta foi realizada com mais de 120 horas de vida.

### 3.10 REGISTRO E GERENCIAMENTO DE DADOS

Os dados foram coletados e digitados em planilhas eletrônicas de *Microsoft Excel*<sup>®</sup>, conferidas pelo pesquisador. As planilhas foram verificadas na função filtro para correção de erros e posteriormente exportadas para o programa *Statistica*<sup>®</sup>. Para os cálculos do risco relativo (RR) foi utilizado o programa *Medcalc*<sup>®</sup>.

### 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise inicial incluiu a determinação da prevalência e da taxa de FP e FN para cada doença de acordo com a classificação de RNT e RNPT.

As medidas de tendência central e de dispersão foram expressas em medianas com seus valores mínimos e máximos: mediana (mínimo-máximo).

Para comparação das variáveis contínuas foi utilizado os testes não paramétricos de Mann-Whitney, para comparar as variáveis assimétricas independentes e o teste de Wilcoxon, para as variáveis assimétricas dependentes. Para a análise das variáveis categóricas utilizou-se o teste de  $X^2$  de Pearson com correção de Yates. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

Para avaliar os resultados FP para fenilcetonúria utilizou-se o teste para diferença entre proporções. E para as demais doenças foi realizado o cálculo do RR com intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

### 3.12 ÉTICA EM PESQUISA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da UFPR na data de 21 de julho de 2014 sob o número 725.555 (Anexo 9).

Para utilização dos dados da ficha de coleta do “Teste do Pezinho”, os responsáveis pelos RN assinaram um termo informativo no momento da coleta. Este termo faz parte da rotina de coleta dos testes de triagem neonatal biológica (Anexo 2).

### 3.13 FOMENTOS PARA PESQUISA

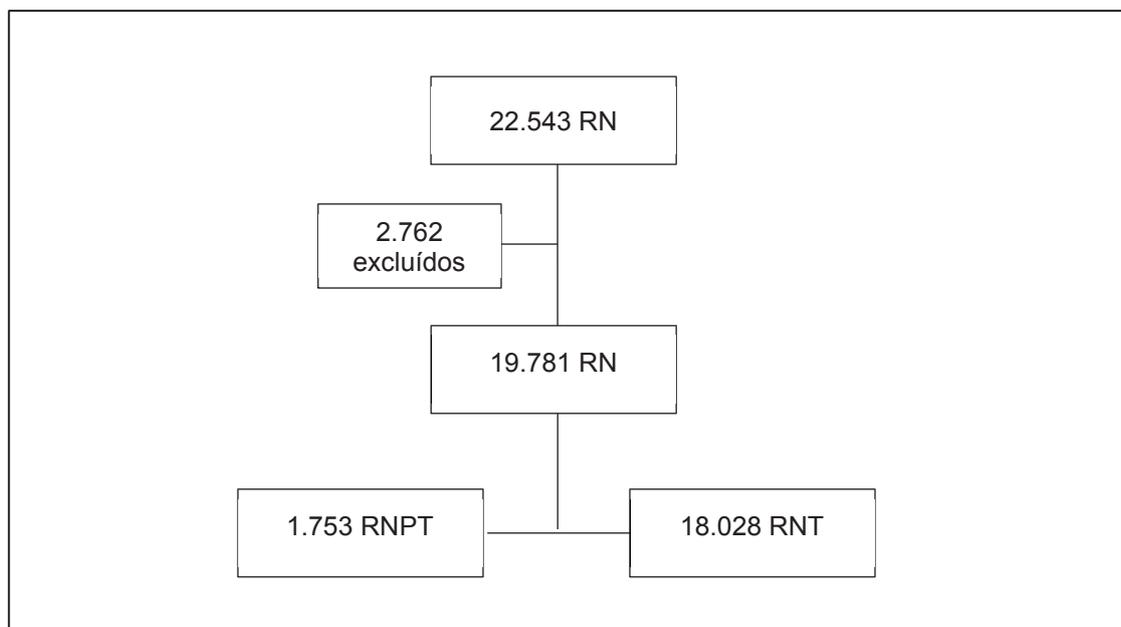
Este estudo foi uma parceria entre a pesquisadora, o Serviço de Referência em Triagem Neonatal (STRN) da FEPE e a UFPR.

## 4 RESULTADOS

A cidade de Curitiba possui atualmente 12 hospitais/maternidades que estão aptos a atender RN de médio ou alto risco. Todas as entidades concordaram em participar do estudo. No entanto, os dados foram coletados somente em 11 hospitais/maternidades, pois em uma das entidades o estudo foi aprovado somente no final do período da coleta de dados, o que resultou em exclusão da mesma do estudo.

No período estudado, março a dezembro de 2015, houve, nas entidades que participaram do estudo, 28.732 coletas dos testes de triagem neonatal em 22.543 RN. A IG foi informada em 19.782 cartões de coleta do “Teste do Pezinho”, dos quais 1.753 eram RNPT (IG  $\leq$  36 semanas e 6 dias) e 18.028 eram RNT (IG entre 37 e 42 semanas). Foram excluídos 2.761 RN, cujas IG não estavam informadas no cartão de coleta e um RN pós termo, por ser o único identificado com IG acima de 42 semanas (Figura 2).

FIGURA 2 – ESTRATIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS AVALIADOS NO ESTUDO – CURITIBA/2015



FONTE: A autora (2017).

LEGENDA: RN, recém-nascidos; RNPT, recém-nascidos pré-termo; RNT, recém-nascidos à termo

A classificação dos RN de acordo com a IG está apresentada na Tabela 1. Como o grupo de PE e MP eram a menor parte dos participantes optou-se por acoplá-los em um único grupo para fins de análise estatística. A média de peso foi de 3.040  $\pm$  516g, sendo 2.193  $\pm$  638g para os RNPT e de 3.122  $\pm$  420g para os RNT. A classificação dos RN de acordo com o peso está descrita na Tabela 1. Para fins de análise estatística, o grupo de BPE e MBP também foram acoplados no mesmo grupo.

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL E COM O PESO – CURITIBA/ 2015

|                       |         | n      | %     |
|-----------------------|---------|--------|-------|
| Classificação da IG   | PE/MP   | 332    | 1,68  |
|                       | PM      | 1.421  | 7,18  |
|                       | RNT     | 18.028 | 91,14 |
| Classificação do peso | BPE/MBP | 243    | 1,26  |
|                       | BPM     | 2.028  | 10,48 |
|                       | PA      | 16.631 | 85,96 |
|                       | EP      | 445    | 2,30  |

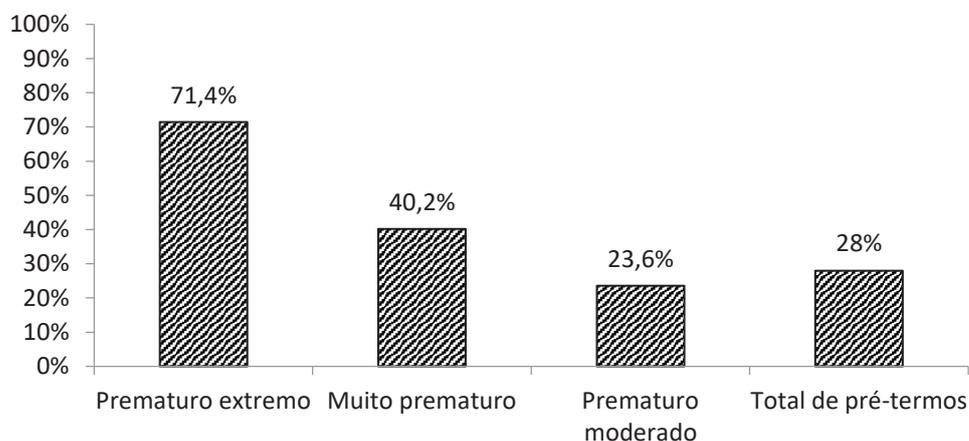
FONTE: A autora (2017).

LEGENDA: PE, prematuro extremo; MP, muito prematuro; PM, prematuro moderado; BPE, baixo peso extremo; MPB, muito baixo peso; BPM, baixo peso moderado; PA, peso adequado; EP; excesso de peso.

Para o cálculo da mediana de idade da primeira coleta foram excluídos 198 RN cuja data e hora da coleta informada no cartão de coleta foi igual a data e hora de nascimento, por ter sido considerado erro de informação. A mediana de idade da primeira coleta viável foi de 48,6 (0,1 – 488,3) horas de vida, sendo 48,6 (0,1 -488,3) horas para RNT e 50,3 (0,4-487,9) horas para RNPT.

A segunda coleta foi analisada somente nos RNPT, tendo em vista que a grande maioria dos RNT não deve realizar a segunda coleta. Somente 486 (28,0%) RNPT realizaram a segunda coleta do teste de triagem neonatal de acordo com os critérios de inclusão e exclusão (Gráfico 2). Destes, 235 (48,4%) realizaram dentro do prazo recomendado (entre 20 e 45 dias de vida) e 124 (25,5%) realizaram a coleta após receber o comunicado de solicitação da segunda coleta. A mediana de idade na segunda coleta destes pacientes foi de 39 (15-622) dias de vida.

GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DE SEGUNDA COLETA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL – CURITIBA/2015



FONTE: A autora (2017)

NOTA: n = 486

As características gerais da população de estudo estão descritas na Tabela 2. Dos RN estudados, 49,6% eram do sexo masculino e 50,4% do sexo feminino. A raça branca predominou em 97,2% dos RN. A gestação foi múltipla em 368 (21,5%) dos RNPT e única em 1.340 (78,5%). Já nos RNT a frequência de gestação múltipla foi de 1,1% (200) e de gestação única foi de 98,9% (17.606). Houve 1.991 (10,44%) RN classificados como PIG, 16.250 (85,29%) como AIG e 813 (4,27%) como GIG. Entre RNPT a quantidade de GIG foi maior (8,8%) quando comparado com os RNT (3,8%) ( $p < 0,01$ ).

No que diz respeito às intervenções, 97 (0,5%) RN receberam transfusão de hemoderivado antes da primeira coleta e em 620 (4,1%) foi utilizado corticoide durante a gestação. Entre os RNPT, a frequência de transfusão de hemoderivados foi 2,8% e nos RNT de 0,3%. Em relação ao corticoide, 53,5% dos RNPT e 2,1% dos RNT receberam.

TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL – CURITIBA/2015

|                                                                           |           | RNPT  | %    | RNT    | %    | Total  | %    | p      |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|-------|------|--------|------|--------|------|--------|
| <b>Sexo</b>                                                               | Feminino  | 844   | 48,5 | 8.975  | 50,6 | 9.819  | 50,4 | 0,09   |
|                                                                           | Masculino | 897   | 52,5 | 8.754  | 49,4 | 9.651  | 49,6 |        |
|                                                                           | Total     | 1.741 | 100  | 17.729 | 100  | 19.470 | 100  |        |
| <b>Raça</b>                                                               | Branca    | 1.651 | 97,3 | 16.609 | 97,2 | 18.260 | 97,2 | 0,3    |
|                                                                           | Parda     | 36    | 2,1  | 337    | 2,0  | 373    | 2,0  |        |
|                                                                           | Negra     | 8     | 0,5  | 123    | 0,7  | 131    | 0,7  |        |
|                                                                           | Amarela   | 1     | 0,1  | 24     | 0,1  | 25     | 0,1  |        |
|                                                                           | Total     | 1.696 | 100  | 17.093 | 100  | 18.789 | 100  |        |
| <b>Classificação do peso de acordo com a IG</b>                           | PIG       | 159   | 9,4  | 1.832  | 10,6 | 1.991  | 10,4 | <0,01* |
|                                                                           | AIG       | 1.388 | 81,8 | 14.862 | 85,6 | 16.250 | 85,3 |        |
|                                                                           | GIG       | 150   | 8,8  | 663    | 3,8  | 813    | 4,3  |        |
|                                                                           | Total     | 1.697 | 100  | 17.357 | 100  | 19.054 | 100  |        |
| <b>Quantidade de fetos na gestação</b>                                    | Único     | 1.340 | 78,5 | 17.606 | 98,9 | 18.946 | 97,1 | <0,01  |
|                                                                           | Múltiplo  | 368   | 21,5 | 200    | 1,1  | 568    | 2,9  |        |
|                                                                           | Total     | 1.708 | 100  | 17.806 | 100  | 19.514 | 100  |        |
| <b>Alimentação antes da coleta do teste de triagem</b>                    | Sim       | 1.533 | 92,2 | 16.896 | 97,3 | 18.429 | 96,9 | <0,01  |
|                                                                           | Não       | 129   | 7,8  | 464    | 2,7  | 593    | 3,1  |        |
|                                                                           | Total     | 1.662 | 100  | 17.360 | 100  | 19.022 | 100  |        |
| <b>Administração de hemoderivados antes da coleta do teste de triagem</b> | Sim       | 44    | 2,8  | 53     | 0,3  | 97     | 0,5  | <0,01  |
|                                                                           | Não       | 1.506 | 97,2 | 16.571 | 99,7 | 18.077 | 99,5 |        |
|                                                                           | Total     | 1.550 | 100  | 16.624 | 100  | 18.174 | 100  |        |
| <b>Administração de corticoide na gestação</b>                            | Sim       | 305   | 53,5 | 315    | 2,1  | 620    | 4,1  | <0,01  |
|                                                                           | Não       | 265   | 46,5 | 14.362 | 97,9 | 14.627 | 95,9 |        |
|                                                                           | Total     | 570   | 100  | 14.677 | 100  | 15.247 | 100  |        |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: \* A diferença encontrada foi somente para os GIG, para os PIG não houve diferença entre os dois grupos.

LEGENDA: RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo; IG, idade gestacional; PIG, pequeno para a idade gestacional; AIG, adequado para a idade gestacional; GIG, grande para a idade gestacional.

#### 4.1 TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA

A primeira dosagem de FAL foi positiva em quatro RN (0,02%), sendo um VP e três FP. A prevalência de FP nos RNPT foi de 1:150. A classificação dos RN de acordo com os resultados dos testes de triagem para fenilcetonúria estão descritos na Tabela 3.

A mediana de FAL encontrada foi de 1,0mg/dL (0,2 - 13,7mg/dL). Nos RNPT a mediana foi 1,1mg/dL e nos RNT foi 1,0mg/dL (Tabela 4). Os RNPT apresentaram uma mediana de FAL na segunda coleta de 1,01 mg/dL. Não houve correlação entre os níveis de FAL e a idade gestacional ( $r = - 0,07$ ). A mediana de FAL na coleta

precoce foi de 1,1mg/dL (0,4 – 4,2) e na coleta adequada foi de 1,05mg/dL (0,2 – 13,7).

TABELA 3 - CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA – CURITIBA/2015

|                             | Classificação dos recém-nascidos |       |        |       | Total  | %     |
|-----------------------------|----------------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                             | RNPT                             | %     | RNT    | %     |        |       |
| Verdadeiro-positivo         | 0                                | 0     | 1      | 0,006 | 1      | 0,006 |
| Verdadeiro-negativo         | 447                              | 99,33 | 17.924 | 99,99 | 18.371 | 99,98 |
| Falso-positivo <sup>a</sup> | 3                                | 0,67  | 0      | 0     | 3      | 0,02  |
| Falso-negativo              | 0                                | 0     | 0      | 0     | 0      | 0     |
| Total                       | 450                              | 100   | 17.925 | 100   | 18.375 | 100   |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup>O teste para diferença entre proporções revelou  $p = 0,08$

LEGENDA: RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

TABELA 4 – MEDIANA DOS NÍVEIS DE FENILALANINA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL – CURITIBA/2015

|                                | Idade Gestacional |               |
|--------------------------------|-------------------|---------------|
|                                | RNPT              | RNT           |
| FAL (mg/dL) na primeira coleta | 1,1 (0,3-13,7)    | 1,0 (0,2-7,1) |
| FAL (mg/dL) na segunda coleta  | 1,0 (0,2-2,3)     |               |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: n = 19.662

LEGENDA: FAL; fenilalanina; RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

Todos os RN com resultado FP para fenilcetonúria eram RNPT e da raça branca (Tabela 5). A diferença de proporções para os resultados FP entre os RNPT e RNT não foi significativa ( $p = 0,08$ ). Dentre os três casos FP, dois RN eram do sexo masculino e um do sexo feminino. O RN 1, do sexo feminino, era gemelar com IG de 27 semanas, não havia recebido alimentação até o momento da coleta e não há informação sobre o uso de NPT. O RN 2 era do sexo masculino e já havia recebido algum tipo de alimentação, mas também não há informação sobre o uso de NPT. O RN 3, do sexo masculino, estava com alimentação enteral e parenteral no momento da coleta. A segunda coleta foi realizada com 37 dias de vida, revelou um resultado normal de FAL, e a NPT já havia sido suspensa. Todos RN apresentaram FAL normal na segunda coleta.

O RN com resultado VP para fenilcetonúria era feminino, branco, não estava em jejum e nem recebendo NPT. A IG foi de 38 semanas e o peso 3.565g, AIG. A

primeira coleta foi realizada com 48,2 horas de vida. A FAL da primeira coleta foi de 7,0mg/dL. Aos 11 dias de vida, em consulta médica, o RN estava pesando 3.710g e a dosagem de FAL foi 10,1mg/dL.

TABELA 5 – RECÉM-NASCIDOS COM RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA FENILCETONÚRIA – CURITIBA/2015

| RN   | IG | Peso <sup>a</sup> | IG/Peso | Idade <sup>b</sup> | FAL <sup>c</sup> | Peso <sup>d</sup> | Idade <sup>e</sup> | FAL <sup>f</sup> |
|------|----|-------------------|---------|--------------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| RN 1 | 27 | 1.140             | AIG     | 42,98              | 3,41             | 1.045             | 16                 | 1,4              |
| RN 2 | 28 | 1.135             | AIG     | 47,87              | 4,23             | 1.830             | 41                 | 0,53             |
| RN 3 | 31 | 1.240             | AIG     | 48,25              | 13,72            | 1.975             | 37                 | 0,96             |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Peso em gramas na primeira coleta. <sup>b</sup> Idade na primeira coleta em horas. <sup>c</sup> Nível de fenilalanina em mg/dL na primeira coleta. <sup>d</sup> Peso em gramas na segunda coleta. <sup>e</sup> Idade na segunda coleta em dias. <sup>f</sup> Nível de fenilalanina em mg/dL na segunda coleta.

LEGENDA: IG, idade gestacional; FAL, fenilalanina.

#### 4.2 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

A dosagem de TSH encontrava-se acima do valor de corte em 42 (0,2%) RN, sendo 8 VP (2 RNPT e 6 RNT) e 34 FP (13 RNPT e 21 RNT). A classificação dos RN de acordo com os resultados dos testes de triagem para hipotireoidismo congênito está apresentada na Tabela 6.

TABELA 6 - CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO – CURITIBA/2015

|                     | Classificação dos recém-nascidos |      |        |       |        |      |
|---------------------|----------------------------------|------|--------|-------|--------|------|
|                     | RNPT                             | %    | RNT    | %     | Total  | %    |
| Verdadeiro-positivo | 2                                | 0,4  | 6      | 0,04  | 8      | 0,04 |
| Verdadeiro-negativo | 435                              | 96,7 | 17.898 | 99,84 | 18.333 | 99,8 |
| Falso-positivo      | 13                               | 2,9  | 21     | 0,1   | 34     | 0,2  |
| Falso-negativo      | 0                                | 0    | 0      | 0     | 0      | 0    |
| Total               | 450                              | 100  | 17.925 | 100   | 18.375 | 100  |

FONTE: A autora (2017).

LEGENDA: RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

A mediana de TSH foi de 1,65µU/mL (0,01-152,00), sendo de 1,73µU/mL para RNPT e de 1,65µU/mL para RNT (Tabela 7). Não houve correlação entre os níveis de TSH e a IG ( $r = - 0,03$ ).

TABELA 7 – MEDIANA DO HORMÔNIO ESTIMULANTE DA TIREOIDE DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL E IDADE DO RECÉM-NASCIDO NA COLETA – CURITIBA/2015

|                                             | Idade gestacional |                  |
|---------------------------------------------|-------------------|------------------|
|                                             | RNPT              | RNT              |
| TSH ( $\mu\text{U/mL}$ ) na primeira coleta | 1,7 (0,01-152,0)  | 1,6 (0,01-129,0) |
| TSH ( $\mu\text{U/mL}$ ) na segunda coleta  | 1,3 (0,06-6,1)    |                  |

---

|                          | Idade na coleta         |                            |                              |
|--------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|
|                          | < 24 horas <sup>a</sup> | 24 – 48 horas <sup>b</sup> | Coleta adequada <sup>c</sup> |
| TSH ( $\mu\text{U/mL}$ ) | 2,2 (0,2-36,9)          | 1,8 (0,2-13,8)             | 1,6 (0,01-152,0)             |
| <i>p</i>                 | < 0,01 <sup>d</sup>     | < 0,01 <sup>e</sup>        |                              |

FONTES: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Menos de 24 horas de vida. <sup>b</sup> Entre 24 e 48 horas de vida. <sup>c</sup> Entre o terceiro e o quinto dia de vida. <sup>d</sup> Comparada coleta < 24 horas e a coleta entre 24 – 48 horas. <sup>e</sup> Comparada coletas com menos de 48 horas de vida e a coleta adequada.

n = 19.663

LEGENDA: TSH, hormônio estimulante da tireoide; RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

Em 11 (32,3%) RN com resultado FP a coleta foi realizada com menos de 48 horas de vida (7 RNPT e 4 RNT). A mediana dos valores de TSH foi maior quando a coleta foi realizada antes de 24 horas de vida (Tabela 7). Também houve diferença entre a coleta realizada entre 24 e 48 horas de vida e a coleta realizada após 48 horas de vida (Tabela 7). A taxa de FP para coletas realizadas com menos de 24 horas de vida foi de 0,05% e para coletas realizadas entre 24 e 48 horas de vida foi de 0,01%. A coleta precoce elevou o risco de resultados FP em 26,8 vezes (IC 95%: 12,5 – 57,3) para hipotireoidismo congênito (Tabela 8). Entre os RN que realizaram a primeira coleta após 120 horas de vida, não houve resultados FP para hipotireoidismo congênito.

O risco de resultado FP para hipotireoidismo congênito foi 6,9 vezes maior entre RNPT (RR = 6,9 IC 95% = 3,5 – 13,5), e quando a IG foi menor que 33 semanas o risco foi ainda maior (RR = 10,4 IC 95% = 3,6 – 29,9) (Tabela 8). A prevalência de resultados FP nos RNPT foi de 1:133 e entre os RNT de 1:854.

TABELA 8 – RISCO RELATIVO PARA RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO NOS RECÉM-NASCIDOS – CURITIBA/2015

|                             | Risco relativo | IC 95%     |
|-----------------------------|----------------|------------|
| Prematuridade               |                |            |
| PE/MP                       | 10,4           | 3,6 – 29,9 |
| PM                          | 6,1            | 2,9 – 12,7 |
| RNPT                        | 6,9            | 3,5 – 13,5 |
| Coleta precoce <sup>a</sup> |                |            |
| RNPT                        | 14,8           | 4,6 – 47,4 |

|          |      |            |
|----------|------|------------|
| RNT      | 20,3 | 6,9 – 59,9 |
| Peso     |      |            |
| BPE/ MBP | 12,1 | 3,5 – 40,9 |
| BPM      | 5,8  | 2,8 – 12,1 |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Coleta antes de 48 horas de vida.

LEGENDA: IC 95%, intervalo de confiança de 95%; PE, prematuro extremo; MP, muito prematuro; PM, prematuro moderado; RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo; BPE, baixo peso extremo; MBP, muito baixo peso; BPM, baixo peso moderado.

A transfusão de hemoderivados e o uso de corticoide pré-natal não aumentaram o risco de FP.

Os RN com resultados VP para hipotireoidismo congênito estão apresentados na Tabela 9. Entre eles, dois eram RNPT, com IG de 34 semanas e 30 semanas. A prevalência nos RNPT foi 1:846 e nos RNT foi de 1:3.004.

O peso no dia da coleta do RN 10 era de 3.120g (GIG). A primeira coleta foi realizada com 48,8 horas de vida e a dosagem de TSH foi 152 $\mu$ U/mL. A segunda coleta foi realizada no dia da consulta com 13 dias de vida, o peso era de 2.600g e a dosagem de TSH em papel filtro foi 193 $\mu$ U/mL. Não há informação sobre o uso de corticoide ou de dopamina.

O RN 11 era um RNPT de 30 semanas de IG e houve elevação tardia do TSH, a primeira coleta foi realizada com 48,1 horas de vida e o TSH em papel filtro foi 1,5 $\mu$ U/mL. A mãe havia recebido duas doses de corticoide na gestação. No momento da primeira coleta não estava em uso de dopamina. Com 25 dias de vida, foi realizada a segunda coleta do teste de triagem neonatal biológica, conforme indicado para RNPT. O TSH em papel filtro foi 27,4 $\mu$ U/mL. Foi coletado TSH sérico, cujo resultado foi de 69,5 $\mu$ U/mL, e com 35 dias de vida foi iniciado tratamento para o RN com levotiroxina.

TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS DOS CASOS VERDADEIRO-POSITIVOS PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

| RN   | IG <sup>a</sup> | Peso/IG <sup>b</sup> | Peso <sup>c</sup> | I <sup>d</sup> | TSH <sup>e</sup> | Peso <sup>f</sup> | I <sup>g</sup> | TSH <sup>h</sup> | TSH <sup>i</sup> | T <sub>4</sub> T <sup>j</sup> | T <sub>4</sub> L <sup>k</sup> |
|------|-----------------|----------------------|-------------------|----------------|------------------|-------------------|----------------|------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| RN 4 | 37              | PIG                  | 1.915             | 48,3           | 109,0            | 2.310             | 14             | 168              | >100             | 2,81                          | 0,45                          |
| RN 5 | 41              | PIG                  | 2.860             | 48,1           | 129,0            | 2.910             | 15             | 55,4             | 114,2            | 11,5                          | 1,2                           |

|       |    |     |       |      |      |       |    |      |       |      |      |
|-------|----|-----|-------|------|------|-------|----|------|-------|------|------|
| RN 6  | 37 | GIG | 3.620 | 48,7 | 20,0 | 3.970 | 15 | 24,7 | 45,4  | 6,4  | 0,86 |
| RN 7  | 39 | AIG | 3.150 | 49,0 | 38,8 | 3.700 | 15 | 101  | >150  | 10,3 | 1,0  |
| RN 8  | 39 | AIG | 2.890 | 48,1 | 32,7 | 3.250 | 9  | 11,2 | 22,53 | 10,5 | 1,21 |
| RN 9  | 39 | GIG | 4.010 | 49,5 | 40,1 | 4.200 | 7  | 27,1 | 39,47 | 12,8 | 1,51 |
| RN 10 | 34 | GIG | 3.120 | 48,8 | 152  | 2.600 | 13 | 193  | -     | 8    | 0,69 |
| RN 11 | 30 | AIG | 1.065 | 48,1 | 1,5  | 1.390 | 25 | 27,4 | 69,5  | 3,34 | 0,61 |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Idade gestacional em semanas. <sup>b</sup> Peso de acordo com a idade gestacional. <sup>c</sup> Peso na primeira coleta em gramas. <sup>d</sup> Idade na primeira coleta em horas. <sup>e</sup> TSH em papel filtro na primeira coleta ( $\mu$ U/mL). <sup>f</sup> Peso na segunda coleta em gramas. <sup>g</sup> Idade na segunda coleta em dias. <sup>h</sup> TSH em papel filtro na segunda coleta ( $\mu$ U/mL). <sup>i</sup> TSH sérico na segunda coleta. <sup>j</sup> T<sub>4</sub> total ( $\mu$ g/dL). <sup>k</sup> T<sub>4</sub> livre (ng/dL).

LEGENDA: RN, recém-nascido; IG, Idade gestacional; I, idade; TSH, hormônio estimulante da tireoide; T<sub>4</sub>T; tetraiodotironina total; T<sub>4</sub>L; tetraiodotironina livre; PIG, pequeno para a idade gestacional; GIG, grande para a Idade gestacional; AIG, adequado para a idade gestacional.

#### 4.3 TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE

Conforme descrito na Tabela 10, para deficiência de biotinidase o teste foi positivo em 17 (0,09%) RN, sendo um VP em um RNT e 16 FP (1 RNPT e 15 RNT). A prematuridade aumentou o risco de FP em 3,4 vezes (RR = 3,4 IC 95% = 1,1 – 10,6). Entretanto, quando foram avaliados os resultados FP de acordo com a IG, não houve diferença de risco tanto para o grupo PE/MP quanto para o grupo PM.

Entre os FP somente 1 RN, com IG de 26 semanas, realizou a coleta antes de 48 horas de vida. A prevalência de FP nos RNPT foi de 1:447 e nos RNT de 1:1.195.

A idade na primeira coleta também não aumentou o risco de FP. Para os outros RN com resultado FP, três eram RNPT e 13 eram RNT. Do mesmo modo nem o peso, nem a relação do peso com a IG influenciaram no risco de resultados FP para deficiência de biotinidase. A transfusão de hemoderivados e o uso de corticoide também não interferiram nos resultados dos testes.

TABELA 10 - CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE – CURITIBA/2015

|  | Classificação dos recém-nascidos |   |     |   |       |   |
|--|----------------------------------|---|-----|---|-------|---|
|  | RNPT                             | % | RNT | % | Total | % |

|                     |     |      |        |       |        |       |
|---------------------|-----|------|--------|-------|--------|-------|
| Verdadeiro-positivo | 0   | 0    | 1      | 0,01  | 1      | 0,005 |
| Verdadeiro-negativo | 446 | 99,8 | 17.912 | 99,91 | 18.358 | 99,9  |
| Falso-positivo      | 1   | 0,22 | 15     | 0,08  | 16     | 0,09  |
| Falso-negativo      | 0   | 0    | 0      | 0     | 0      | 0     |
| Total               | 447 | 100  | 17.928 | 100   | 18.375 | 100   |

FONTE: A autora (2017).

LEGENDA: RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

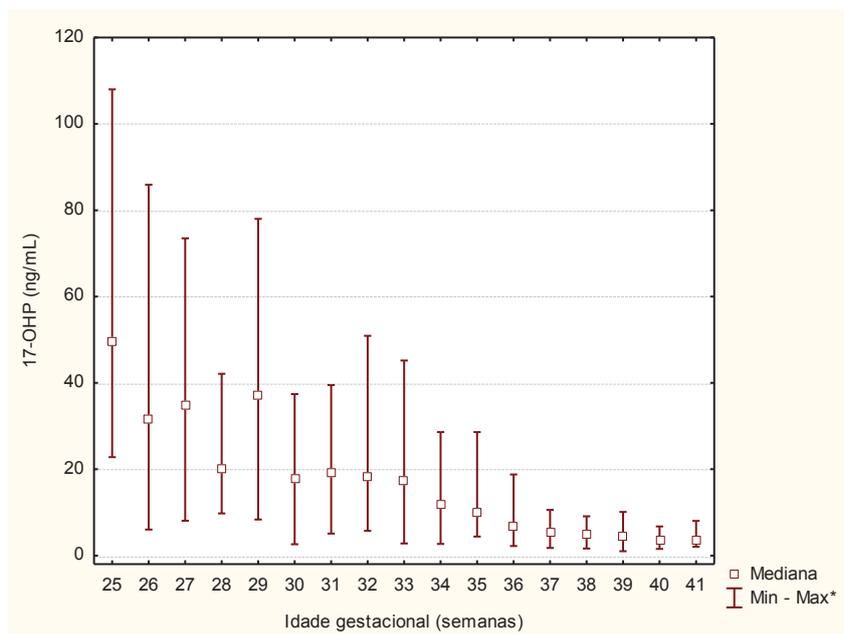
No período estudado, somente em um paciente o diagnóstico foi confirmado para deficiência de biotinidase. Este RN era do sexo masculino, de termo e AIG. A primeira coleta foi realizada com 48,13 horas de vida e o peso na ocasião era de 3120g. O RN iniciou tratamento com 31 dias de vida e, posteriormente, foi confirmada a deficiência de biotinidase na forma parcial, com teste quantitativo da dosagem de biotinidase de 1,7 nmol/min/mL (valor de referência: 5,1 a 10 nmol/min/mL).

#### 4.4 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

A mediana de 17-OHP de acordo com a IG está representada no Gráfico 3. A 17-OHP estava aumentada em 132 RN (0,7%), sendo dois VP (um RNPT e um RNT) e 130 FP (81 RNPT e 49 RNT). A taxa de FP foi de 98,5%, sendo que a mediana da dosagem de 17-OHP foi de 4,8 ng/mL (0,01-492,0) com mediana de 8,3ng/mL nos RNPT e de 4,4ng/mL nos RNT.

Nos RNPT, na segunda coleta, a mediana de 17-OHP diminuiu para 4,8ng/dL. As medianas de 17-OHP de acordo com a IG estão descritas na Tabela 11. A mediana de 17-OHP na coleta precoce também apresentou diferença quando comparada com a mediana na coleta adequada. Na coleta precoce a mediana foi 5,7ng/mL (1,1 – 189,0) e na coleta adequada foi 4,51ng/mL (0,01 – 492,00) ( $p < 0,01$ ).

GRÁFICO 3 – MEDIANA DE 17-HIDROXIPROGESTERONA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL – CURITIBA/2015



FONTE: A autora (2017).

NOTA: n = 18.653. Os *outliers* foram excluídos do gráfico

LEGENDA: Min – Max; mínimo e máximo; 17-OHP, 17-hidroxiprogesterona

TABELA 11 – MEDIANA DE 17-HIDROXIPROGESTERONA DE ACORDO COM A IDADE GESTACIONAL – CURITIBA/2015

|                                   | Idade gestacional   |                   | <i>p</i>            |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
|                                   | RNPT                | RNT               |                     |
| 17-OHP (ng/dL) na primeira coleta | 8,35 (0,87-371,0)   | 4,39 (0,01-492,0) | < 0,01 <sup>a</sup> |
| 17-OHP (ng/dL) na segunda coleta  | 4,76 (0,03-421,0)   |                   |                     |
| <i>p</i>                          | < 0,01 <sup>b</sup> |                   |                     |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Comparada a primeira coleta dos RNPT e RNT.

<sup>b</sup> Comparada a primeira com a segunda coleta nos RNPT.

LEGENDA: 17-OHP, 17-hidroxiprogesterona; RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

A classificação dos RN de acordo com os resultados dos testes de triagem neonatal está descrita na Tabela 12. Foi observada uma taxa de FP nos RN do estudo de 1,1%, da qual 52,3% foi em RNPT. A prevalência de FP nos RNPT foi de 1:5,6 e nos RNT de 1:366. Não foi observado, neste estudo, nenhum caso de FN.

TABELA 12 - CLASSIFICAÇÃO DOS TESTES DE TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA – CURITIBA/2015

Classificação dos recém-nascidos

|                     | RNPT | %    | RNT    | %    | Total  | %    |
|---------------------|------|------|--------|------|--------|------|
| Verdadeiro-positivo | 1    | 0,22 | 1      | 0,01 | 2      | 0,01 |
| Verdadeiro-negativo | 368  | 81,8 | 17.875 | 99,7 | 18.243 | 99,3 |
| Falso-positivo      | 81   | 18   | 49     | 0,3  | 130    | 0,7  |
| Falso-negativo      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    |
| Total               | 450  | 100  | 17.925 | 100  | 18.375 | 100  |

FONTE: A autora (2017).

LEGENDA: RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo.

Conforme observado na Tabela 13 o risco de resultados FP diante da prematuridade foi 17,0 vezes maior (RR = 17,0 IC 95% = 12,0 – 24,2), visto que no grupo PE/MP o risco foi de 15,9 e no grupo PM o risco foi de 17,8 vezes maior que para os RNT.

TABELA 13 – RISCO RELATIVO PARA RESULTADOS FALSO-POSITIVOS PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA NOS RECÉM-NASCIDOS – CURITIBA/2015

|                             | Risco relativo | IC 95%        |
|-----------------------------|----------------|---------------|
| Prematuridade               |                |               |
| PE/MP                       | 15,93          | 8,95 – 28,37  |
| PM                          | 17,83          | 12,53 – 25,37 |
| RNPT                        | 17             | 11,97 – 24,17 |
| Coleta precoce <sup>a</sup> |                |               |
| RNPT                        | 3,69           | 2,01 – 6,76   |
| RNT                         | 28,94          | 15,28 – 54,80 |
| Peso                        |                |               |
| BPE/ MBP                    | 4,71           | 2,08 – 10,69  |
| BPM                         | 3,38           | 2,29 – 4,99   |

FONTE: A autora (2017).

NOTA: <sup>a</sup> Coleta antes de 48 horas de vida.

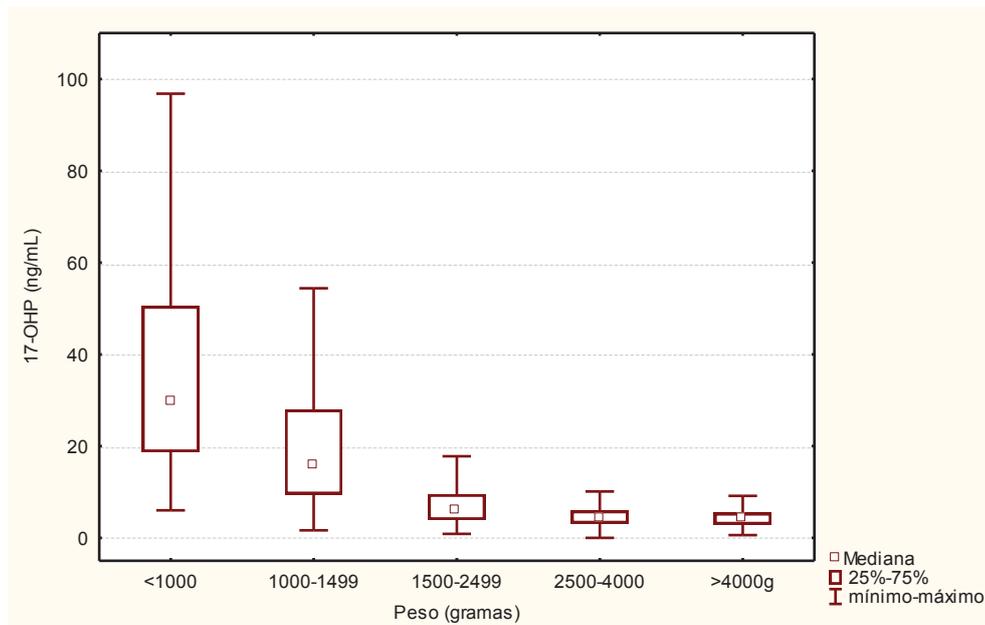
LEGENDA: IC 95%, intervalo de confiança de 95%; PE, prematuro extremo; MP, muito prematuro; PM, prematuro moderado; RNPT, recém-nascido pré-termo; RNT, recém-nascido a termo; BPE, baixo peso extremo; MBP, muito baixo peso; BPM, baixo peso moderado.

Em 23 RN (0,12%) com resultado FP a coleta foi realizada com menos de 48 horas de vida (11 RNPT e 12 RNT). A coleta precoce apresentou um risco 16,4 vezes maior de resultados FP para HAC (RR = 16,4 IC 95% = 10,5 – 25,6). Para os RNT a coleta precoce apresentou um risco de FP 28,8 vezes maior (Tabela 13). Já para os RNPT o risco foi de apenas 3,7. Não houve diferença no risco para a coleta tardia.

Em relação ao peso, 6 (4,6%) RN com resultados FP estavam no grupo BPE/MBP, 35 (26,9%) no grupo BPM e 89 (68,5%) no grupo PA. Observou-se relação inversa do peso com os valores de 17-OHP (Gráfico 4). O risco de FP no grupo

BPE/MBP foi de 4,7 (Tabela 13). Não houve diferença para FP no grupo BPM. Para os RN PIG ou GIG não houve diferença no risco de FP.

GRÁFICO 4 – MEDIANA DA 17-HIDROXIPROGESTERONA DE ACORDO COM O PESO DO RECÉM-NASCIDO – CURITIBA/2015



FONTE: A autora (2017).

NOTA: n = 18.472. Os *outliers* foram excluídos do gráfico.

LEGENDA: 17-OHP, 17-hidroxiprogesterona.

Os RN que utilizaram corticoide no pré-natal apresentaram um risco 12,3 vezes maior de resultados FP (RR = 12,3 IC 95% = 7,6 – 19,8). Para os RNPT que utilizaram corticoide no pré-natal a mediana de 17-OHP foi de 13,4ng/mL e para os que não utilizaram corticoide foi de 7,6ng/mL ( $p < 0,001$ ).

Para HAC a transfusão de hemoderivados determinou risco 10,2 vezes maior de resultados FP (RR = 10,2 IC 95% = 4,6-22,8).

No período estudado houve dois casos confirmados de HAC. No primeiro caso a IG foi de 39 semanas e o peso no momento da coleta foi 3.145g. A primeira coleta foi realizada com 117,2 horas de vida e o valor de 17-OHP foi de 88,5ng/mL.

O segundo caso era um RNPT de 35 semanas de IG e peso na coleta de 2.120g (AIG). A coleta foi realizada com 66,2 horas de vida e a 17-OHP foi 371ng/mL. Com 11 dias de vida foi realizada uma nova coleta que apresentou 17-OHP de 421ng/mL.

Cinco RN apresentaram resultados FP tanto para hipotireoidismo congênito quanto para HAC. Todos eram RNT. O peso variou de 2.695g a 4.695g. Somente em um deles a coleta foi realizada adequadamente após 48 horas de vida. Nos demais RN a coleta foi realizada precocemente, variando entre 0,7 e 5,3 horas de vida.

Os testes de triagem para hipotireoidismo congênito e a HAC foram responsáveis pela maioria dos resultados FP observados no estudo (89,3%).

## 5 DISCUSSÃO

Este estudo analisou os resultados dos testes de triagem neonatal para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e hiperplasia adrenal congênita para RNPT.

Cerca de 73% dos RNPT que nasceram em Curitiba, no período estudado, participaram do estudo. Os demais, nasceram em entidades que não participaram do estudo ou não tiveram a IG informada no cartão de coleta do “Teste do Pezinho”. Entretanto, somente 28% dos RN que participaram, realizaram a segunda coleta, e destes, menos da metade (48,4%) realizaram dentro do prazo recomendado, o que demonstra baixa adesão ao protocolo de coleta para RNPT do STRN-PR. Felizmente, não houve casos VP entre os RN que realizaram a segunda com mais de 45 dias de vida.

Percebeu-se que quanto menor a IG, melhor a adesão. Isso se deu, provavelmente, devido ao maior tempo de permanência nas UTIN, onde foi realizada a segunda coleta. Aqueles RNPT que receberam alta antes do 20º dia de vida provavelmente não foram sensibilizados quanto à importância de realizar a segunda coleta na unidade de saúde, fato evidenciado pelos 124 RNPT que realizaram a coleta somente após receber o comunicado. Estes indicadores mostram que esta orientação precisa ser mais enfatizada pelos pediatras e equipe de enfermagem para que seja executada.

### 5.1 TRIAGEM NEONATAL PARA FENILCETONÚRIA

Apesar da diferença entre proporções entre RNPT e RNT não ser estatisticamente significativa para os FP para fenilcetonúria, é curioso observar que todos os pacientes com resultados FP eram prematuros, com IG menor que 32 semanas e peso menor que 1.500g.

Slaughter *et al.* (2010) acharam frequência de FP (número de FP/ número de VN) em RN nos testes de triagem e encontraram uma taxa de 11/1.000, 14/1.000 e 3,6/1000 para RN com peso menor que 1.000g, peso entre 1.000g e 1.499g e peso entre 1.500g e 2.499g, respectivamente. Para os RN com peso entre 2.500 e 3.999g

a taxa foi de 0,33/1.000, indicando que RN com baixo peso tem um risco maior de resultados FP.

Zaffanello *et al.* (2003), em um estudo retrospectivo das hiperfenilalaninemias nos testes de triagem neonatal, encontraram um risco de FP de aproximadamente 4,2% para cada 100g a menos de peso nos RN, especialmente para aqueles com peso menor que 2.500g. Também encontraram maior frequência de FP para RN do sexo masculino e a IG foi significativamente menor no grupo FP, quando comparado com RN com resultados normais.

A prevalência de FP em RNPT encontrada neste estudo (1:150) foi o dobro da encontrada por Zaffanello *et al.* em outra publicação (1:330). A incidência de FP nos RNPT foi 12 vezes maior que em RNT (Zaffanello *et al.*, 2005).

Devido ao pequeno número de casos, não foi possível avaliar a influência do sexo nos níveis de FAL. No entanto, dos três RN com resultados FP, dois eram do sexo masculino e um do sexo feminino. Estudos com um número maior de RN serão necessários para avaliar se a prevalência de FP é diferente entre os sexos.

Não foi estudado a relação entre o uso de NPT e os níveis de FAL em todos os RN. Contudo, observou-se nível de FAL muito elevado no RN 3, que estava em uso de NPT, com normalização após a suspensão da mesma. Lucas *et al.* encontraram frequência de 23% de níveis aumentados de FAL em RNPT que estavam recebendo NPT e frequência de 1% em RNPT que não estavam recebendo. Tim-Aroom *et al.* (2015) demonstraram que parar a infusão de NPT por 3 horas antes da coleta do teste de triagem e substituir por uma solução glicosada, diminuiu a taxa de FP para aminoacidopatias em RNPT, sem trazer consequências.

Resultados FP para fenilcetonúria, além de aumentar a ansiedade dos familiares, podem levar ao erro de diagnóstico, com tratamentos desnecessários (Brosco *et al.*, 2008). Outra preocupação reside no fato de se níveis aumentados são suficientes para causar alterações nestes RN, já que a lesão cerebral na fenilcetonúria é dependente do acúmulo de FAL no cérebro e da falta de outros aminoácidos, devido a um mecanismo competitivo entre os aminoácidos (Kaye *et al.*, 2006). Lucas *et al.* (1993) demonstraram que os níveis elevados de FAL em RNPT devido a NPT não afetaram o desenvolvimento neuropsicomotor destes RN aos 18 meses de idade.

Curiosamente os níveis de FAL estavam mais altos nos RN com coleta precoce, provavelmente por imaturidade das enzimas sintetizadas no fígado (Shortland *et al.*, 1994).

O Ministério da Saúde recomenda que a coleta do teste de triagem neonatal seja realizada entre o 3º e o 5º dia de vida, para que um aporte adequado de fenilalanina seja ingerido e para evitar os casos FN. No Paraná é recomendado que a coleta do “Teste do Pezinho” nos RNT seja realizada na alta da maternidade, e se a coleta ocorrer antes de 48 horas de vida, o exame deve ser repetido entre o terceiro e o quinto dia de vida na unidade de saúde (FEPE, 2013). Este estudo indicou que os valores de fenilalanina na coleta precoce estavam discretamente maiores que aqueles da coleta adequada. No período estudado não houve nenhum caso de fenilcetonúria relatado ao Serviço de Referência em Triagem Neonatal que não tenha sido detectado pelos testes de triagem, fato que foi considerado como nenhum caso de FN. Muitos países já adotam a coleta dos testes de triagem para fenilcetonúria após 24 horas de vida com o intuito de antecipar o diagnóstico e início do tratamento, já que os pacientes com fenilcetonúria clássica já evidenciam aumentos nos níveis de FAL nas primeiras horas de vida. Todavia, as formas leves de fenilcetonúria podem levar mais tempo para elevar os níveis de FAL. Testes que utilizam a espectrometria de massas são mais sensíveis para a detecção precoce da fenilcetonúria (Kaye *et al.*, 2006). Novos estudos são necessários para verificar se realmente a coleta realizada antes de 48 horas pode resultar em testes FN para fenilcetonúria.

## 5.2 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

A mediana dos valores de TSH nos RNPT foi discretamente maior que a mediana nos RNT. Não foi possível estabelecer uma correlação entre os níveis de TSH e a IG. Dhondt *et al.* (2008) também não encontraram correlação dos valores de TSH de acordo com a IG.

Fisher *et al.* (1970) demonstraram que entre 18 e 22 semanas há um aumento nos níveis do TSH fetal que permanece até o termo. As publicações de Fisher (2008) e Chung (2014) relatam que durante o parto há uma rápida conversão da tireoide de um estado de baixa atividade para um estado de hiperatividade, com o objetivo de

manter a termogênese do RN e a adaptação cardiovascular. Este processo se inicia no hipotálamo, ativando o eixo hipotálamo-hipofisário e aumentando as concentrações de TSH, que, 30 minutos após o parto, podem atingir níveis de 60 a 70 $\mu$ U/mL, normalizando entre o terceiro e o quinto dia de vida. Nos RNPT os níveis de T<sub>4</sub> estão diminuídos e, devido à imaturidade do eixo hipotálamo-hipofisário, podem resultar em TSH normal ou pouco elevado (Wayne *et al.*, 2009). A hipertireotropinemia é mais comum em RNPT e a causa ainda não é bem clara. Alguns autores sugerem que pode ser devido a substâncias bociogênicas, deficiência de iodo ou medicamentos. Outra causa pode ser o excesso de soluções antissépticas à base de iodo (Buyukgebiz, 2006; Wayne *et al.*, 2009; Chung, 2014). Recém-nascidos pré-termo em nutrição somente por via parenteral podem não receber quantidade adequada de iodo (taxa de recomendação diária: 90 $\mu$ g/dia), aumentando as taxas de FP (Wayne *et al.*, 2009). O uso de NPT não aumentou o risco de FP para hipotireoidismo congênito neste estudo.

A prematuridade, por sua vez, aumentou o risco de FP em 6,9 vezes. Observou-se que quando a IG foi menor que 33 semanas este risco aumentou para 10,4 vezes. Silva *et al.* (2010) encontraram uma prevalência de FP de 1:80 em RN com IG menor que 32 semanas. A prevalência de FP deste estudo foi de 1:133, menor que o estudo de Silva *et al.*, mesmo com idade de coleta mais precoce e utilizando o mesmo valor de corte.

A mediana de TSH nos RNPT na primeira coleta foi maior que na segunda coleta (1,73 $\mu$ U/mL na primeira coleta e 1,29 $\mu$ U/mL na segunda coleta). Silva *et al.* (2010), estudando prematuros no estado de Minas Gerais, encontraram mediana de 1,3 $\mu$ U/mL na coleta realizada entre o 4<sup>o</sup> e o 7<sup>o</sup> dia de vida e de 1,4 $\mu$ U/mL na coleta realizada entre 29<sup>o</sup> e 32<sup>o</sup> dia de vida. Os maiores valores de TSH na primeira coleta deste estudo provavelmente deveram-se à coleta mais precoce (mediana de 49 horas de vida) que a coleta realizada no estudo de Silva *et al.*

A alta materna precoce, que leva à coleta precoce dos testes de triagem, pode aumentar a taxa de FP de 3:1 para 5:1, segundo alguns autores. Tang *et al.* (2016) encontraram uma taxa de FP de 0,099% em coletas realizadas com menos de 24 horas de vida e de 0,010% em coletas realizadas entre 24 e 48 horas de vida. Na Califórnia, onde foi realizado o estudo, a recomendação é coletar os testes de triagem após 24 horas de vida. O presente estudo apresentou uma taxa de FP de 0,05% para

coletas realizadas com menos de 24 horas de vida e de 0,01% para coletas realizadas entre 24 e 48 horas de vida.

Slaughter *et al.* (2010) encontraram uma taxa de FP quatro vezes maior em RNPT com IG menor que 32 semanas, quando a coleta foi realizada com menos de 24 horas de vida. Na presente amostra o maior fator de risco de FP para hipotireoidismo congênito foi a coleta precoce (RR =26,78 IC 95% = 12,5 – 57,3), tanto para RNPT quanto para RNT. Este fato deve ser levado em consideração, face a recomendação do Ministério da Saúde que orienta a coleta dos testes de triagem na admissão do RNPT na UTIN, pois tenderão a aumentar os custos da triagem neonatal e ainda aumentar a ansiedade dos familiares destes RN. Neste levantamento, a maioria das maternidades não realiza a coleta no momento da admissão do RNPT.

Em relação ao peso, a incidência de FP foi maior nos RN com peso menor que 2.500g, especialmente o grupo BPE/ MBP (RR =12,1 IC = 3,5 – 40,9), no qual a prevalência de FP foi de 1:81 ou 12,3:1.000. Slaughter *et al.* (2010) encontraram uma taxa de FP de 65:1.000 em RN com peso menor que 1.000g, de 61:1.000 com peso entre 1.000 e 1.500g e de 5,1:1.000 com peso maior que 2.500g.

O aumento do TSH tem sido relacionado com o estresse no período perinatal. Aguiar *et al.* (2016) encontraram uma prevalência maior de hipertireotropinemia (TSH elevado com T<sub>4</sub> livre normal) em RN do sexo masculino, parto vaginal e idade materna avançada. Neste estudo não houve diferença entre os sexos para resultados FP. A idade materna e o tipo de parto não foram avaliados.

Não há consenso na literatura sobre os valores ideais de corte do TSH para os testes de triagem para hipotireoidismo congênito. Os programas utilizam o valor de 6μU/mL, 10μU/mL ou até 20μU/mL, o que causa muita diferença na prevalência dos resultados FP e FN (Mengreli *et al.*, 2010; Hashemipour *et al.*, 2017).

Nos RNPT, devido à imaturidade do eixo hipotálamo-hipofisário, a hipófise pode não responder suficientemente ao mecanismo de *feedback* nos casos de hipotireoidismo congênito. A consequência pode ser um teste de triagem inicial com níveis de TSH normais, seguido por elevação tardia do mesmo (Fisher, 2008; Chung, 2014).

No período estudado observou-se oito casos VP para hipotireoidismo congênito, entre eles dois RNPT (prevalência nos RNPT de 1:856). Um deles com elevação tardia de TSH, reforçando a necessidade de repetição do teste em RNPT.

Vários autores referem uma maior prevalência de hipotireoidismo congênito em RNPT, na maioria das vezes de hipotireoidismo transitório (Mengreli *et al.*, 2010; Srinivasan *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2015; Olivieri *et al.*, 2015).

Silva *et al.* (2010) encontraram prevalência de hipotireoidismo congênito em RNPT de 1:242. Em 11 RNPT diagnosticados com hipotireoidismo congênito, 10 apresentaram elevação tardia de TSH. A prevalência de elevação tardia de TSH em RN em BPE/MPB encontrada por Lee *et al.* (2015) foi de 91,6%. A prevalência encontrada por Woo *et al.* (2011) foi de 1:95 no grupo BPE/MPB. A baixa prevalência de hipotireoidismo congênito detectada com elevação tardia de TSH, no presente estudo, pode ter sido em virtude da baixa adesão ao protocolo de coleta para prematuros, já que menos de 1/3 realizaram a segunda coleta.

Lee *et al.* (2015), ao estudar RN com BPE/MBP, encontraram maior prevalência de hipotireoidismo congênito nos FIG. No estudo atual, somente um RNPT com hipotireoidismo congênito estava no grupo MBP e foi classificado como AIG.

Alguns estudos recomendam a repetição da coleta somente para RNPT com IG abaixo de 34 semanas. Apesar dos RNPT deste estudo, diagnosticados com hipotireoidismo congênito, apresentarem IG menor que 34 semanas, o SRTN-PR ratifica a recomendação de realizar a segunda coleta em todos os prematuros com IG menor que 36 semanas. Srinivasan *et al.* (2012) encontraram casos de hipotireoidismo congênito com elevação tardia de TSH em RNPT de 35 semanas. Nos Estados Unidos da América alguns estados já realizam, rotineiramente, uma segunda coleta nos testes de triagem para hipotireoidismo congênito em todos os RN entre 8 e 14 dias de vida, independente da IG. Shapira *et al.*, (2015) em um estudo realizado em 12 estados americanos, encontraram taxa de 11,5% de casos de hipotireoidismo congênito diagnosticados na segunda coleta dos testes de triagem, independente da IG.

Korada *et al.* (2008) sugerem que o segundo teste não é necessário em RNPT se for utilizado valor de corte de 6  $\mu$ U/mL. Neste estudo, se tivesse sido utilizado o valor de corte de 6 $\mu$ U/mL, não teria sido diagnosticado o RNPT com elevação tardia

de TSH, pois na primeira coleta o valor de TSH foi de 1,5 $\mu$ U/mL, o que reforça a importância de realizar a segunda coleta.

Hashemipour *et al.*, (2017) em uma revisão sistemática, encontraram 40% dos estudos recomendando uma segunda coleta, 13,9% recomendando utilizar ambos, TSH e T<sub>4</sub> para o teste de triagem, 11,1% recomendando baixar os valores de corte do TSH e do T<sub>4</sub> livre e 8,3% recomendando valores de corte de acordo com a IG. Os autores concordam com um valor de corte de 10 $\mu$ U/mL e discordam do valor de corte de 6 $\mu$ U/mL por aumentar muito a taxa de FP e não diagnosticar todas as elevações tardias de TSH.

Korzeniewski *et al.* (2013) compararam dois protocolos de coleta em RN internados em UTIN, o primeiro com somente uma coleta e o segundo com uma segunda coleta, realizada com 30 dias de vida. O valor de corte do TSH variou com a idade da coleta entre 10 e 50 $\mu$ U/mL. A prevalência de hipotireoidismo congênito no primeiro protocolo foi 1,2/1.000 e no segundo foi 2,6/1.000.

Os RNPT estão mais sujeitos à intervenções e uso de medicações. O uso de corticosteroides pode levar à inibição da secreção de TSH e a outras disfunções da tireoide. No presente estudo o uso de corticoide no pré-natal não influenciou a prevalência de resultados FP. Lee *et al.* (2015) não encontraram influência do corticoide na prevalência de hipotireoidismo congênito. Entre os RNPT com hipotireoidismo congênito, um utilizou duas doses de corticoide no pré-natal, no outro não há informação sobre o uso desta medicação.

Larson *et al.* (2003) encontraram associação de elevação tardia de TSH em RN do grupo BPE/MBP e transfusão de hemoderivados de 70%. A associação destes mesmos RN com cardiopatia congênita foi de 45%. É possível que os pacientes com cardiopatia congênita tenham recebido mais transfusão de hemoderivados e dopamina. Filippi *et al.* (2004) encontraram níveis de TSH menores em recém-nascidos BPE/MBP em uso de dopamina, sugerindo uma inibição de TSH na hipófise. No presente estudo não foi avaliado o uso de dopamina e não foi observado associação entre transfusão de sangue e elevação tardia do TSH.

Não foi possível, também, estabelecer relação entre a elevação tardia do TSH e o peso ou IG. Estudos posteriores, com maior número de RNPT e mais representativo da nossa população são necessários para a elaboração de um

protocolo de coleta mais adequado à realidade brasileira. No momento a recomendação é realizar a coleta em todos os RNPT.

### 5.3 TRIAGEM NEONATAL PARA DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE

Coincidentemente, a taxa de FP encontrada neste estudo foi igual a taxa encontrada por Forman *et al.* (1992) (0,09%), utilizando o mesmo método de triagem. Contudo, a taxa foi maior que a relatada por Thibodeau *et al.* (1993) (0,05%) e menor que a descrita por Neto *et al.* (2004) (0,12%).

Não foi possível, neste estudo, estabelecer relação entre os parâmetros estudados e resultados FP para deficiência de biotinidase, apesar dos RNPT apresentarem maior prevalência de FP.

A prematuridade representa risco três vezes maior de FP, no entanto, não houve aumento do risco quando comparados os grupos de PE/MP ou PM. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Wiltink *et al.* (2016), que também não observaram maior incidência de FP em RNPT ou PIG, porém diferente da encontrada por Thibodeau *et al.* (1993) (46,8% dos resultados FP foram devido a prematuridade). Suormala *et al.* (1988) encontraram uma correlação positiva da atividade de biotinidase e a idade gestacional nos primeiros 10 dias de vida.

Schulpis *et al.* (2003) constataram uma atividade menor de biotinidase quanto maior a taxa de bilirrubinas do RN, demonstrando uma relação entre icterícia do RN e a atividade da biotinidase. Como cerca de 80% dos RNPT desenvolvem icterícia, é presumível que alguns resultados FP deste estudo também estejam a ela relacionados (Maisels, 2015). Todavia, o fator icterícia não foi avaliado no presente estudo.

Provavelmente, alguns resultados FP encontrados neste estudo tenham sido mais em razão da qualidade da amostra, que devido a prematuridade, já que a biotinidase é muito sensível a dificuldades na coleta e ao ambiente. Neto *et al.* (2004) e Wolf *et al.* (2010) relataram problemas como umidade, excesso de calor e dificuldade na coleta da amostra, como possíveis fatores para resultados FP.

A despeito de alguns autores citarem possibilidade de resultados FN em RN que receberam transfusão de plasma ou em menor possibilidade de concentrado de

hemácias, ainda não há consenso sobre quanto tempo a transfusão de hemoderivados pode afetar os resultados dos testes de triagem neonatal para deficiência de biotinidase nos RN (Wayne *et al.*, 2009; Wolf, 2010). Também não foram encontradas referências na literatura que justifiquem a repetição dos testes de triagem para deficiência de biotinidase. No presente estudo a transfusão de hemoderivados não afetou os resultados dos testes de triagem.

No Brasil, há duas recomendações conflitantes pelo Ministério da Saúde. O manual para Triagem Neonatal Biológica não recomenda a repetição dos testes de triagem para deficiência de biotinidase após a transfusão, mas o manual para diagnóstico e tratamento de Deficiência de Biotinidase recomenda repetição dos testes de triagem três meses após a transfusão (Brasil. Ministério da Saúde, 2015, 2016). De acordo com os dados encontrados neste estudo, não ficou evidente a recomendação de repetir ou não a coleta após a transfusão.

#### 5.4 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

No período analisado 0,71% dos pacientes apresentaram níveis de 17-OHP acima do valor de corte e somente 0,005% (2 casos) confirmaram a doença. Esta taxa foi maior que a encontrada por Gidlöf *et al.* (2014) (0,57%), porém os autores utilizaram valores de corte de 17-OHP maiores. No Brasil, Barra *et al.* (2012) relataram 1% de 106.476 RN com resultados acima do valor de corte para 17-OHP e 11% dos RNPT apresentaram resultados FP. Ryckman *et al.* (2012) descreveram uma prevalência de FP de 10,4% para RNPT com IG entre 33 e 36 semanas e de 10,1% para RNPT abaixo de 32 semanas. Estas taxas foram menores que as encontradas neste estudo (18%).

A mediana de 17-OHP foi significativamente maior quanto menor foi a idade gestacional, achado também relatado por outros autores (Nordenstrom *et al.*, 2001; Dhondt, 2008; Ryckman *et al.*, 2012; Chennuri *et al.*, 2013).

A prematuridade representou risco de FP principalmente no grupo PM, fato este que pode ser explicado pelo valor de corte da 17-OHP, que é classificado de acordo com o peso do RN e não de acordo com a IG. Cabe aqui supor que muitos RNPT do grupo PM tenham o peso maior que 2.500g e utilizem o mesmo valor de

corde dos RNT, com valores de corte de 17-OHP mais baixos. Entretanto, González *et al.* (2013) encontraram um risco 9,7 maior de RNPT apresentarem níveis elevados de 17-OHP. O valor de corte utilizado no estudo não foi estratificado de acordo com a IG ou o com o peso do RN.

Em virtude do valor de corte para 17-OHP ser categorizado de acordo com o peso do RN, o risco de FP em RN com baixo peso foi menor que o risco encontrado para RNPT. O risco encontrado neste estudo (4,71) foi menor que o relatado por González *et al.* (2013), de 8,4. Alguns autores demonstraram que os níveis de 17-OHP aumentam conforme diminui o peso do RN (Olgemoller *et al.*, 2003; Slaughter *et al.*, 2010; Ryckman *et al.*, 2012). Este resultado também foi observado neste estudo.

Uma outra explicação para o maior risco de FP pode ser o estresse ao qual RNPT são submetidos, maior que os RNT. Chennuri *et al.* (2013) analisaram os níveis de 17-OHP em RN doentes e sadios e encontraram níveis significativamente maiores em RN submetidos ao estresse como aspiração de mecônio, sepse e asfixia neonatal. Estes níveis foram maiores inclusive que os níveis encontrados em RNPT. Ryckman *et al.* (2012) encontraram número maior de FP em RN com síndrome do distress respiratório.

O estresse também pode ser uma explicação para o aumento do risco de FP para RN submetidos a transfusão de hemoderivados. Uma vez que a transfusão não afeta os níveis de 17-OHP, é presumível que os RN transfundidos sejam mais doentes que os que não foram.

Assim como no hipotireoidismo congênito, a coleta precoce na HAC determinou maior risco de resultados FP, risco este, maior nos RNT. Orgemöller *et al.* (2003) compararam os valores de 17-OHP de acordo com o peso e idade da coleta. Eles constataram diminuição nos níveis de 17-OHP a partir do terceiro dia de vida e esta diferença foi significativamente maior em RN com peso acima de 2.000g. Para os RN com peso entre 1.000 e 2.000g também houve diferença no resultado da coleta realizada entre o primeiro e segundo dia de vida, porém a diminuição nos níveis de 17-OHP foi mais acentuada a partir de 14 dias de vida. Já para RN com peso menor que 1.000g não houve diferença nos níveis de 17-OHP nos primeiros 13 dias de vida, a partir do 14º dia de vida a diferença foi estatisticamente significativa.

Slaughter *et al.* (2010) encontraram uma redução de 44% na taxa de FP para HAC em amostras coletadas após 48 horas vida. Tang *et al.* (2016) encontraram diferença entre amostras coletadas antes de 24 horas e amostras coletadas entre 24 e 48 horas. A maior taxa de FP para coletas abaixo de 24 horas ocorreu em RN com peso maior que 2.500g.

Ryckman *et al.* (2012) encontraram que os RN FIG tiveram menos resultados FP que os AIG, provavelmente devido à capacidade de esteroidogênese menor dos FIG. No presente estudo não houve associação entre o peso para a idade gestacional e os níveis de 17-OHP.

Várias sugestões para diminuir a taxa de FP na triagem neonatal para HAC têm surgido, entre elas a técnica de extração da 17-OHP das amostras com éter que reduziu em 40% a taxa de reconvocação no primeiro teste de triagem, todavia esta técnica foi abandonada devido à demora da técnica, o que leva ao atraso no início de tratamento dos pacientes diagnosticados com a doença (Fingerhut, 2009; Gidlof *et al.*, 2014). Lee *et al.* (2008) desenvolveram um escore com base na IG e no peso em quilogramas do RN, o que diminuiu a taxa de reconvocação para RNPT PM e RN com MBP e BPM. No entanto, os RNPT com IG menor que 30 semanas e RN com peso menor que 1.000g, não apresentaram alterações na taxa de reconvocação com o escore apresentado. Alguns programas de triagem neonatal têm utilizado a espectrometria de massas como um segundo teste na mesma amostra, o que diminuiu a taxa de reconvocação, porém não eliminou totalmente os resultados FP, principalmente nos RNPT (Tajima e Fukushi, 2016). Olgemöller *et al.* (2003) propuseram valores de corte com base no peso do RN e na idade da coleta, com isso conseguiram reduzir a prevalência de FP de 1,12% para 0,73% e aumentar o valor preditivo positivo. Chan *et al.* (2013) avaliaram os benefícios de uma segunda coleta entre 8 e 14 dias de vida e encontraram uma diminuição de FP na segunda coleta. Contudo, a segunda coleta aumentou em 39% os custos da triagem para HAC.

É presumível que valores de corte de 17-OHP ajustados de acordo com a IG ocasionem menos resultados FP que os valores de corte ajustados para o peso, pois os níveis mais altos de 17-OHP no RNPT são decorrentes da imaturidade do sistema endócrino e do estresse neonatal. Entretanto, para a realidade brasileira, as informações sobre a IG são menos precisas que as informações sobre o peso,

situação que poderia ocasionar mais resultados FP ou, o que seria pior, mais resultados FN.

Os RN cujas mães utilizaram corticoide no pré-natal também tiveram maior probabilidade de resultados FP, fato este explicado pela prematuridade. O uso de corticoide foi descrito como possível causa para resultados FN para HAC, no entanto, estes resultados são dose dependente, nos quais os níveis de 17-OHP são menores somente com o uso de múltiplas doses de betametasona no pré-natal (Gatelais *et al.*, 2004). Neste estudo não houve casos de FN para HAC e o número de doses de corticoide não foi avaliado.

King *et al.* (2001) e Nordenström *et al.* (2001) também não encontraram evidências de que o uso de corticoide no pré-natal possa suprimir os níveis de 17-OHP. O presente estudo também não evidenciou supressão dos níveis de 17-OHP com a utilização de corticoide pré-natal, já que a mediana dos RNPT que utilizaram corticoide foi maior que a mediana daqueles que não utilizaram.

O objetivo da triagem neonatal para HAC é detectar a forma perdedora de sal e a correção do distúrbio da diferenciação sexual. A maioria dos estudos publicados relatam resultados FN somente para a forma virilizante simples. Para forma perdedora de sal a sensibilidade tem sido em torno de 100%. Não há conhecimento pelo STRN de resultados FN para HAC no período estudado. Schreiner *et al.* (2008) relataram cinco casos de resultados FN, mesmo com valores de corte mais baixos que os utilizados pelo SRTN-PR. Gidlöf *et al.* (2014) também relataram casos FN, porém somente na forma virilizante simples, e os níveis de corte da 17-OHP foram maiores que os utilizados no STRN-PR. Chan *et al.* (2013) encontraram taxa de FN de 28% para HAC com coleta realizada nos primeiros 3 dias de vida. No entanto, não há informação se os casos perdidos foram da forma clássica ou da forma virilizante simples.

Um dos grandes desafios da triagem neonatal para HAC é a alta prevalência de resultados FP, e ressalta-se aqui a prematuridade como um dos maiores fatores contribuintes. O esquema de coleta utilizado atualmente, com valores de corte de 17-OHP, com base no peso do RN, mostrou-se adequado para a triagem, sem perda de casos verdadeiro-positivos. Ajustes nos valores de corte da 17-OHP de acordo com

as características da população aqui estudada ou a utilização de valores de corte baseados na IG e no peso talvez pudessem diminuir a prevalência de FP.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que a maior prevalência de resultados FP foi em RNPT, era esperado que pudesse ocorrer resultados FP para diferentes doenças em uma mesma amostra. No entanto, neste estudo, cinco RN apresentaram resultados FP tanto para hipotireoidismo congênito quanto para HAC e todos eram RNT. Neste caso a coleta precoce, que ocorreu em quatro RN, foi a responsável por estes resultados. Estes dados não se equipararam com os encontrados com Zaffanello *et al.*, (2005) que de 39 RN com resultados FP múltiplos para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e HAC, 37 eram RNPT e com baixo peso.

A maior prevalência de resultados FP foi para hipotireoidismo congênito e HAC, que juntos foram responsáveis por 95% destes resultados. Esta taxa foi maior que a encontrada por Slaughter *et al.*, (2010) no qual o hipotireoidismo congênito e a HAC responderam por 75% dos casos de FP.

Em todo programa de triagem neonatal taxas de FP são esperadas, porém esforços devem ser feitos para que sejam as menores possíveis. Tarini *et al.* (2011) verificaram que RNPT com resultados FP nos testes de triagem frequentam mais os serviços de emergência que os RNPT com resultados normais, o que não foi observado nos RNT. Tu *et al.* (2012) demonstraram que crianças com resultados FP nos testes de triagem são mais sujeitas a cuidados extras, além dos pais, que alcançaram pontuações maiores na avaliação do “*Parental Stress Index*”. Para reduzir os efeitos do estresse nos pais destes RN é preciso que médicos e outros profissionais de saúde envolvidos no atendimento esclareçam adequadamente os motivos pelos quais a repetição dos testes ou os exames confirmatórios estão sendo solicitados e o seu significado.

As equipes dos programas de triagem neonatal se esforçam para reduzir ao máximo a ocorrência de FN, incluindo os casos de elevação tardia do TSH nos RNPT, grupo que é mais vulnerável a estes resultados. Com o objetivo de evitar FN, são fortes as evidências para recomendação da segunda coleta neste grupo de RN.

Observou-se que a maior parte dos RNPT nascidos em Curitiba não realizaram a segunda coleta do teste, fator preocupante para atrasos no diagnóstico do hipotireoidismo congênito. O STRN-PR, já tendo notado esta falta de coleta, realizou algumas medidas como redução do prazo para a coleta do segundo exame para entre 20 e 30 dias de vida e a inserção de uma mensagem com orientações aos pais junto com o canhoto, com a senha, para checar o resultado do “Teste do Pezinho”. Recomenda-se também uma campanha de conscientização dos profissionais de saúde para que orientem adequadamente os pais dos RNPT.

A recomendação do Ministério da Saúde para realizar a primeira coleta na admissão do RNPT na UTIN parece ser inviável, de acordo com este estudo, pois além de acrescentar uma coleta aos RNPT, aumentaria muito os resultados FP, já citados anteriormente. Os custos para a realização deste procedimento envolvem não somente a realização técnica do teste de triagem, mas toda a logística utilizada para reconvocação destes RN e, em alguns casos, realização de exames confirmatórios. A única vantagem desta coleta seria para os casos de hemoglobinopatias em RN que irão receber transfusão de hemoderivados antes de 48 horas de vida. Mas uma boa orientação aos profissionais de saúde que atuam nas UTIN, recomendando a coleta antes de realizar a primeira transfusão pode substituir esta recomendação.

Infelizmente, a baixa adesão ao protocolo de coleta para RNPT recomendado pelo SRTN-PR, foi uma das limitações deste estudo. Não foi possível avaliar a real prevalência de elevação tardia de TSH e o impacto do uso de corticoide nos resultados dos testes de triagem para HAC. Como o estudo envolveu diversas maternidades na cidade de Curitiba, a pesquisadora não teve acesso à maioria dos prontuários dos RN, dos quais poderia ter acesso às informações que estavam faltando no cartão de coleta do “Teste do Pezinho” e no questionário com as variáveis interferentes, cujos pais assinaram o TCLE.

Outra limitação do estudo foram os resultados FN. Não há informações precisas referentes às quatro doenças pesquisadas. Não houve, no período estudado, relato de casos ao SRTN-PR, o que nos levou a considerar como ausência de FN. Porém, o número real de resultados FN é impreciso.

Sob outra perspectiva, o protocolo atual mostrou-se adequado na detecção dos casos positivos para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de

biotinidase e HAC. Novos estudos com maior número de RNPT, comparando duas coletas, ou comparando dois protocolos, e maior adesão, são necessários para aperfeiçoar e adequar o protocolo à realidade brasileira.

## 6 CONCLUSÕES

- A prevalência de FP nos RNPT para fenilcetonúria foi 1:150, para hipotireoidismo congênito foi 1:133, para deficiência de biotinidase foi 1:447 e para HAC foi 1:5,6. Não houve resultados FN comunicados ao SRTN-PR para as doenças analisadas no estudo.
- Os RNPT apresentaram maior prevalência de resultados FP que os RNT nos testes de triagem neonatal biológica. Um RNPT apresentou elevação tardia do TSH. Não foi possível comparar os resultados FN devido à ausência de casos na amostra estudada.
- A IG e o peso não influenciaram nos resultados FP dos testes para fenilcetonúria e deficiência de biotinidase. Porém, tanto a IG quanto o peso aumentaram o risco de resultados FP para hipotireoidismo congênito e HAC. A transfusão de hemoderivados e uso de corticoide no pré-natal não influenciaram os resultados FP para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e deficiência de biotinidase. RN submetidos à transfusão de hemoderivados ou cujas mães utilizaram corticoide no pré-natal apresentaram um risco maior de resultados FP para HAC.
- A coleta precoce aumentou o risco de resultados FP para hipotireoidismo congênito e HAC. A coleta precoce não influenciou os resultados dos testes de triagem para fenilcetonúria e deficiência de biotinidase. A coleta tardia não influenciou os resultados dos testes de triagem para as doenças pesquisadas.

- Menos de 1/3 (28%) dos RNPT realizaram a segunda coleta do teste de triagem neonatal biológica conforme determina o protocolo do SRTN-PR. A adesão foi maior no grupo de PE. O protocolo atual mostrou-se adequado na detecção dos casos positivos para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, deficiência de biotinidase e HAC.

## REFERÊNCIAS

ADVISORY COMMITTEE ON HERITABLE DISORDERS IN NEWBORNS AND CHILDREN (ACHDNC). **Recommended uniform screening panel**. 2016. Disponível em: <https://www.hrsa.gov/advisorycommittees/mchbadvisory/heritabledisorders/recommendedpanel/index.html#>. Acesso em 13 out. 2017.

AGUIAR, L. et al. Can One Predict Resolution of Neonatal Hyperthyrotropinemia? **J Pediatr**, v. 174, p. 71-77.e1, Jul 2016. ISSN 0022-3476.

AL HAFID, N.; CHRISTODOULOU, J. Phenylketonuria: a review of current and future treatments. **Transl Pediatr**, v. 4, n. 4, p. 304-17, Oct 2015. ISSN 2224-4344 (Print) 2224-4336.

ARES, S. et al. Neonatal hypothyroxinemia: effects of iodine intake and premature birth. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82, n. 6, p. 1704-12, Jun 1997. ISSN 0021-972X (Print) 0021-972x.

BALK, K. G. Recommended newborn screening policy change for the NICU infant. **Policy Polit Nurs Pract**, v. 8, n. 3, p. 210-9, Aug 2007. ISSN 1527-1544 (Print) 1527-1544.

BARRA, C. B. et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. **Rev Assoc Med Bras (1992)**, v. 58, n. 4, p. 459-64, Jul-Aug 2012. ISSN 0104-4230.

BERNAL, J. Thyroid Hormones in Brain Development and Function. In: DE GROOT, L. J.; CHROUSOS, G., *et al* (Ed.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000.

BETTIOL, H.; BARBIERI, M. A.; SILVA, A. A. M. Epidemiologia do nascimento pré-termo: tendências atuais. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 32, n. 2, p. 57-60, 2010.

BONITA, R. et al. **Epidemiologia básica**. 2. ed. São Paulo: Santos, 2010. cap. 8.

BORSATTO, T. et al. Biotinidase deficiency: clinical and genetic studies of 38 Brazilian patients. **BMC Med Genet**, v. 15, p. 96, Sep 01 2014. ISSN 1471-2350.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 822, de 06 de junho de 2001. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal/PNTN. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jun. 2001. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822\\_06\\_06\\_2001.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html). Acesso em: 06 ago. 2017

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2829, de 14 de dezembro de 2012. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído pela Portaria nº 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 14 dez. 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/Ivy/Google%20Drive/fepe/tese/Revisão%20sistemática/portaria%202829.html. Acesso em: 06 ago. 2017

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Triagem neonatal : deficiência de biotinidase / **Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática**. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Triagem neonatal biológica: manual técnico / **Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática**. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BROSCO, J. P. et al. Adverse medical outcomes of early newborn screening programs for phenylketonuria. **Pediatrics**, v. 122, n. 1, p. 192-7, Jul 2008. ISSN 0031-4005.

BROSCO, J. P.; SEIDER, M. I.; DUNN, A. C. Universal newborn screening and adverse medical outcomes: a historical note. **Ment Retard Dev Disabil Res Rev**, v. 12, n. 4, p. 262-9, 2006. ISSN 1080-4013 (Print) 1080-4013.

BUYUKGEBIZ, A. Newborn screening for congenital hypothyroidism. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 19, n. 11, p. 1291-8, Nov 2006. ISSN 0334-018X (Print) 0334-018x.

CHAN, C. L. et al. Congenital adrenal hyperplasia and the second newborn screen. **J Pediatr**, v. 163, n. 1, p. 109-13.e1, Jul 2013. ISSN 0022-3476.

CHENNURI, V. S. et al. Serum 17 alpha hydroxyprogesterone in normal full term and preterm vs sick preterm and full term newborns in a tertiary hospital. **Indian J Pediatr**, v. 80, n. 1, p. 21-5, Jan 2013. ISSN 0019-5456.

CHUNG, H. R. Adrenal and thyroid function in the fetus and preterm infant. **Korean J Pediatr**, v. 57, n. 10, p. 425-33, Oct 2014. ISSN 1738-1061 (Print) 1738-1061.

COULM, B. et al. Efficiency of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in children born in mainland France between 1996 and 2003. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v. 166, n. 2, p. 113-20, Feb 2012. ISSN 1072-4710.

DHONDT, J. L. [Prematurity and neonatal screening]. **Arch Pediatr**, v. 15 Suppl 1, p. S7-s11, Jun 2008. ISSN 0929-693X (Print) 0929-693x.

DONTANVILLE, V. K.; CUNNINGHAM, G. C. Effect of feeding on screening for PKU in infants. **Pediatrics**, v. 51, n. 3, p. 531-8, Mar 1973. ISSN 0031-4005 (Print) 0031-4005

EL-MAOUCHE, D.; ARLT, W.; MERKE, D. P. Congenital adrenal hyperplasia. **Lancet**, May 30 2017. ISSN 0140-6736.

FENTON, T. R.; KIM, J. H. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. **BMC Pediatr**, v. 13, p. 59, Apr 20 2013. ISSN 1471-2431.

FEPE - Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional: histórico. 2015. Disponível em: < <http://201.22.6.15.static.gvt.net.br/fepe/historico.html> >. Acesso em:01 set.2017.

FILIPPI, L. et al. Dopamine infusion and hypothyroxinaemia in very low birth weight preterm infants. **Eur J Pediatr**, v. 163, n. 1, p. 7-13, Jan 2004. ISSN 0340-6199 (Print) 0340-6199.

FINGERHUT, R. False positive rate in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia (CAH)-ether extraction reveals two distinct reasons for elevated 17alpha-hydroxyprogesterone (17-OHP) values. **Steroids**, v. 74, n. 8, p. 662-5, Aug 2009. ISSN 0039-128x.

\_\_\_\_\_. Thyroid system immaturities in very low birth weight premature infants. **Semin Perinatol**, v. 32, n. 6, p. 387-97, Dec 2008. ISSN 0146-0005.

FISHER, D. A. et al. Thyroid function in the preterm fetus. **Pediatrics**, v. 46, n. 2, p. 208-16, Aug 1970. ISSN 0031-4005 (Print) 0031-4005.

FISHER, D. A.; KLEIN, A. H. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. **N Engl J Med**, v. 304, n. 12, p. 702-12, Mar 19 1981. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793.

FORMAN, D. T.; BANKSON, D. D.; HIGHSMITH, W. E., JR. Neonatal screening for biotinidase deficiency. **Ann Clin Lab Sci**, v. 22, n. 3, p. 144-54, May-Jun 1992. ISSN 0091-7370 (Print) 0091-7370.

FUNDAÇÃO ECUMÊNICA DE PROTEÇÃO AO EXCEPCIONAL (FEPE). **MANUAL TÉCNICO DE COLETA DO "TESTE DO PEZINHO"**. 3. Ed. Curitiba: Departamento de Comunicação FEPE, 2013.

Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE): histórico. 2015. Disponível em: < <http://201.22.6.15.static.gvt.net.br/fepe/historico.html> >. Acesso em: 01 set. 2017.

FUNDAÇÃO ECUMÊNICA DE PROTEÇÃO AO EXCEPCIONAL (FEPE). **Relatório de atividades**. Curitiba, 2016. Não publicado.

GATELAIS, F. et al. Effect of single and multiple courses of prenatal corticosteroids on 17-hydroxyprogesterone levels: implication for neonatal screening of congenital adrenal hyperplasia. **Pediatr Res**, v. 56, n. 5, p. 701-5, Nov 2004. ISSN 0031-3998 (Print) 0031-3998.

GIDLOF, S. et al. Nationwide neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in sweden: a 26-year longitudinal prospective population-based study. **JAMA Pediatr**, v. 168, n. 6, p. 567-74, Jun 2014. ISSN 2168-6203.

GONZALEZ, E. C. et al. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Cuba: six years of experience. **Clin Chim Acta**, v. 421, p. 73-8, Jun 05 2013. ISSN 0009-8981.

GUTHRIE, R.; SUSI, A. A SIMPLE PHENYLALANINE METHOD FOR DETECTING PHENYLKETONURIA IN LARGE POPULATIONS OF NEWBORN INFANTS. **Pediatrics**, v. 32, p. 338-43, Sep 1963. ISSN 0031-4005 (Print) 0031-4005.

HARWARD, R. S. et al. **NEWBORN SCREENING FOR SICK OR PRETERM NEWBORNS**: 1-12 p. 2010.

HASHEMIPOUR, M. et al. Screening of congenital hypothyroidism in preterm, low birth weight and very low birth weight neonates: A systematic review. **Pediatr Neonatol**, Jul 22 2017. ISSN 1875-9572.

HAYASHI, G. et al. Weight-adjusted neonatal 17OH-progesterone cutoff levels improve the efficiency of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 55, n. 8, p. 632-7, Nov 2011. ISSN 0004-2730.

ISHII, T. et al. Guidelines for diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency (2014 revision). **Clin Pediatr Endocrinol**, v. 24, n. 3, p. 77-105, Jul 2015. ISSN 0918-5739 (Print)  
0918-5739.

KAYE, C. I. et al. Newborn screening fact sheets. **Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. e934-63, Sep 2006. ISSN 0031-4005.

\_\_\_\_\_. Introduction to the newborn screening fact sheets. **Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. 1304-12, Sep 2006. ISSN 0031-4005.

KELLEHER, A. S. et al. The influence of amino-acid supplementation, gestational age and time on thyroxine levels in premature neonates. **J Perinatol**, v. 28, n. 4, p. 270-4, Apr 2008. ISSN 0743-8346 (Print)  
0743-8346.

KING, J. L. et al. Antenatal corticosteroids and newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v. 155, n. 9, p. 1038-42, Sep 2001. ISSN 1072-4710 (Print)  
1072-4710.

KORADA, M. et al. Repeat testing for congenital hypothyroidism in preterm infants is unnecessary with an appropriate thyroid stimulating hormone threshold. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v. 93, n. 4, p. F286-8, Jul 2008. ISSN 1359-2998.

KORZENIEWSKI, S. J. et al. Screening for congenital hypothyroidism in newborns transferred to neonatal intensive care. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v. 98, n. 4, p. F310-5, Jul 2013. ISSN 1359-2998.

KURTOGLU, S.; HATIPOGLU, N. Non-Classical Congenital Adrenal Hyperplasia in Childhood. **J Clin Res Pediatr Endocrinol**, v. 9, n. 1, p. 1-7, Mar 01 2017.

LARSON, C. et al. Risk factors associated with delayed thyrotropin elevations in congenital hypothyroidism. **J Pediatr**, v. 143, n. 5, p. 587-91, Nov 2003. ISSN 0022-3476 (Print)  
0022-3476.

LEAL, M. D. et al. Prevalence and risk factors related to preterm birth in Brazil. **Reprod Health**, v. 13, n. Suppl 3, p. 127, Oct 17 2016. ISSN 1742-4755.

LEAO, L. L.; AGUIAR, M. J. Newborn screening: what pediatricians should know. **J Pediatr (Rio J)**, v. 84, n. 4 Suppl, p. S80-90, Aug 2008. ISSN 0021-7557.

LEE, J. E. et al. Corrected 17-alpha-hydroxyprogesterone values adjusted by a scoring system for screening congenital adrenal hyperplasia in premature infants. **Ann Clin Lab Sci**, v. 38, n. 3, p. 235-40, Summer 2008. ISSN 0091-7370.

LEE, J. H. et al. Thyroid dysfunction in very low birth weight preterm infants. **Korean J Pediatr**, v. 58, n. 6, p. 224-9, Jun 2015. ISSN 1738-1061 (Print) 1738-1061.

LEGER, J. et al. Subtle health impairment and socioeducational attainment in young adult patients with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening: a longitudinal population-based cohort study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 6, p. 1771-82, Jun 2011. ISSN 0021-972x.

\_\_\_\_\_. European Society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. **Horm Res Paediatr**, v. 81, n. 2, p. 80-103, 2014. ISSN 1663-2818.

LUCAS, A.; BAKER, B. A.; MORLEY, R. M. Hyperphenylalaninaemia and outcome in intravenously fed preterm neonates. **Arch Dis Child**, v. 68, n. 5 Spec No, p. 579-83, May 1993. ISSN 0003-9888.

MACIEL, L. M. et al. Congenital hypothyroidism: recommendations of the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 57, n. 3, p. 184-92, Apr 2013. ISSN 0004-2730.

MAISELS, M. J. Managing the jaundiced newborn: a persistent challenge. **Cmaj**, v. 187, n. 5, p. 335-43, Mar 17 2015. ISSN 0820-3946.

MATIJASEVICH, A. et al. **Estimativas corrigidas da prevalência de nascimentos pré-termo no Brasil, 2000 a 2011**. Improved estimates of pretermbirth prevalence in Brazil, 2000-2011. Brasília: rv. Saúde. 22 2013.

MENGRELI, C. et al. Screening for congenital hypothyroidism: the significance of threshold limit in false-negative results. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 9, p. 4283-90, Sep 2010. ISSN 0021-972x.

National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. **Pediatrics**, v. 108, n. 4, p. 972-82, Oct 2001. ISSN 0031-4005.

NETO, E. C. et al. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: biochemical and molecular characterizations. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 3, p. 295-9, Mar 2004. ISSN 0100-879X (Print) 0100-879x.

NORDENSTROM, A. et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. **Pediatrics**, v. 108, n. 4, p. E68, Oct 2001. ISSN 0031-4005.

OLGEMOLLER, B. et al. Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values to both age and birth weight markedly improves

the predictive value. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 12, p. 5790-4, Dec 2003. ISSN 0021-972X (Print) 0021-972x.

OLIVIERI, A.; FAZZINI, C.; MEDDA, E. Multiple factors influencing the incidence of congenital hypothyroidism detected by neonatal screening. **Horm Res Paediatr**, v. 83, n. 2, p. 86-93, 2015. ISSN 1663-2818.

PARANÁ. Lei 8627 de 09 de dezembro de 1987: dispõe sobre a obrigatoriedade dos diagnósticos que especifica, nas crianças nascidas nas maternidades e casas hospitalares mantidas pelo Estado do Paraná. **Diário Oficial no. 2667 de 10 de Dezembro de 1987**. Curitiba: Diário Oficial no. 2667, 10 dez. 1987.

PONZONE, A. et al. Impact of neonatal protein metabolism and nutrition on screening for phenylketonuria. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 46, n. 5, p. 561-9, May 2008. ISSN 0277-2116

RASTOGI, M. V.; LAFRANCHI, S. H. Congenital hypothyroidism. **Orphanet J Rare Dis**, v. 5, p. 17, Jun 10 2010. ISSN 1750-1172.

RYCKMAN, K. K. et al. Replication of clinical associations with 17-hydroxyprogesterone in preterm newborns. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 25, n. 3-4, p. 301-5, 2012. ISSN 0334-018X (Print) 0334-018x.

SCHREINER, F. et al. False negative 17-hydroxyprogesterone screening in children with classical congenital adrenal hyperplasia. **Eur J Pediatr**, v. 167, n. 4, p. 479-81, Apr 2008. ISSN 0340-6199 (Print) 0340-6199.

SCHUCK, P. F. et al. Phenylketonuria Pathophysiology: on the Role of Metabolic Alterations. **Aging Dis**, v. 6, n. 5, p. 390-9, Sep 2015. ISSN 2152-5250 (Print) 2152-5250.

SCHULPIS, K. H. et al. The effect of neonatal jaundice on biotinidase activity. **Early Hum Dev**, v. 72, n. 1, p. 15-24, May 2003. ISSN 0378-3782 (Print) 0378-3782.

Secretaria de Estado da Saúde do Paraná (SESA). TabNet Linux 2.6a: Nascidos Vivos - Paraná - DE 1999 A 2017. CURITIBA, 2015. Disponível em:< <http://www.tabnet.sesa.pr.gov.br/tabnetsesa/dh?sistema/sinasc99diante/nascido> >. Acesso em 05 jan. 2015.

SHAPIRA, S. K. et al. Single newborn screen or routine second screening for primary congenital hypothyroidism. **Mol Genet Metab**, v. 116, n. 3, p. 125-32, Nov 2015. ISSN 1096-7192.

SHORTLAND, G. J. et al. Phenylalanine kinetics in sick preterm neonates with respiratory distress syndrome. **Pediatr Res**, v. 36, n. 6, p. 713-8, Dec 1994. ISSN 0031-3998 (Print) 0031-3998.

SILVA, S. A. et al. Screening for congenital hypothyroidism in extreme premature and/or very low birth weight newborns: the importance of a specific protocol. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 23, n. 1-2, p. 45-52, Jan-Feb 2010. ISSN 0334-018X (Print) 0334-018x.

SLAUGHTER, J. L. et al. The effects of gestational age and birth weight on false-positive newborn-screening rates. **Pediatrics**, v. 126, n. 5, p. 910-6, Nov 2010. ISSN 0031-4005.

SPEISER, P. W. et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 9, p. 4133-60, Sep 2010. ISSN 0021-972x.

SRINIVASAN, R. et al. Permanent and transient congenital hypothyroidism in preterm infants. **Acta Paediatr**, v. 101, n. 4, p. e179-82, Apr 2012. ISSN 0803-5253.

SUORMALA, T.; WICK, H.; BAUMGARTNER, E. R. Low biotinidase activity in plasma of some preterm infants: possible source of false-positive screening results. **Eur J Pediatr**, v. 147, n. 5, p. 478-80, Jun 1988. ISSN 0340-6199 (Print) 0340-6199.

TAJIMA, T.; FUKUSHI, M. Neonatal mass screening for 21-hydroxylase deficiency. **Clin Pediatr Endocrinol**, v. 25, n. 1, p. 1-8, Jan 2016. ISSN 0918-5739 (Print) 0918-5739.

TANG, H. et al. Damaged goods?: an empirical cohort study of blood specimens collected 12 to 23 hours after birth in newborn screening in California. **Genet Med**, v. 18, n. 3, p. 259-64, Mar 2016. ISSN 1098-3600.

TARINI, B. A. et al. False-positive newborn screening result and future health care use in a state Medicaid cohort. **Pediatrics**, v. 128, n. 4, p. 715-22, Oct 2011. ISSN 0031-4005.

THIBODEAU, D. L. et al. Comparison of the effects of season and prematurity on the enzymatic newborn screening tests for galactosemia and biotinidase deficiency. **Screening**, 2: 19-27 p. 1993.

TIM-AROON, T. et al. Stopping Parenteral Nutrition for 3 Hours Reduces False Positives in Newborn Screening. **J Pediatr**, v. 167, n. 2, p. 312-6, Aug 2015. ISSN 0022-3476.

TORRESANI, T.; BIASON-LAUBER, A. Congenital adrenal hyperplasia: diagnostic advances. **J Inherit Metab Dis**, v. 30, n. 4, p. 563-75, Aug 2007. ISSN 0141-8955.

TSUJI, A. et al. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Tokyo, Japan from 1989 to 2013: a retrospective population-based study. **BMC Pediatr**, v. 15, p. 209, Dec 15 2015. ISSN 1471-2431.

TU, W. J. et al. Psychological effects of false-positive results in expanded newborn screening in China. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e36235, 2012. ISSN 1932-6203.

UNICEF. Pesquisa para estimar a prevalência de nascimentos pré-termo no Brasil e explorar as possíveis causas. **Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF)**, 2013.

VAN WEGBERG, A. M. J. et al. The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment. **Orphanet J Rare Dis**, v. 12, n. 1, p. 162, Oct 12 2017. ISSN 1750-1172.

WAISBREN, S. E. et al. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: a systematic literature review and meta-analysis. **Mol Genet Metab**, v. 92, n. 1-2, p. 63-70, Sep-Oct 2007. ISSN 1096-7192 (Print) 1096-7192.

WAYNE, P.A. et al. Newborn screening for preterm, low birth weight, and sick newborns; approved guidelines. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2009.

WILSON, J. M.; JUNGNER, Y. G. [Principles and practice of mass screening for disease]. **Bol Oficina Sanit Panam**, v. 65, n. 4, p. 281-393, Oct 1968. ISSN 0030-0632 (Print) 0030-0632.

WILTINK, R. C. et al. Neonatal screening for profound biotinidase deficiency in the Netherlands: consequences and considerations. **Eur J Hum Genet**, v. 24, n. 10, p. 1424-9, Oct 2016. ISSN 1018-4813.

WOLF, B. Clinical issues and frequent questions about biotinidase deficiency. **Mol Genet Metab**, v. 100, n. 1, p. 6-13, May 2010. ISSN 1096-7192.

WOO, H. C. et al. Congenital hypothyroidism with a delayed thyroid-stimulating hormone elevation in very premature infants: incidence and growth and developmental outcomes. **J Pediatr**, v. 158, n. 4, p. 538-42, Apr 2011. ISSN 0022-3476.

ZAFFANELLO, M.; MAFFEIS, C.; ZAMBONI, G. Multiple positive results during a neonatal screening program: a retrospective analysis of incidence, clinical implications and outcomes. **J Perinat Med**, v. 33, n. 3, p. 246-51, 2005. ISSN 0300-5577 (Print) 0300-5577.

ZAFFANELLO, M. et al. Neonatal birth parameters of positive newborns at PKU screening as predictors of false-positive and positive results at recall-testing. **J Med Screen**, v. 10, n. 4, p. 181-3, 2003. ISSN 0969-1413 (Print) 0969-1413.

ZEMPLINI, J.; HASSAN, Y. I.; WIJERATNE, S. S. Biotin and biotinidase deficiency. **Expert Rev Endocrinol Metab**, v. 3, n. 6, p. 715-724, Nov 01 2008. ISSN 1744-6651 (Print) 1744-6651.

ZUNG, A. et al. Risk Factors for the Development of Delayed TSH Elevation in Neonatal Intensive Care Unit Newborns. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 102, n. 8, p. 3050-3055, Aug 01 2017. ISSN 0021-972x.

**APÊNDICE 1**

Ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Prezado Coordenador

Declaramos que nós do \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

estamos de acordo com a condução do projeto de pesquisa **Avaliação dos Testes de Triagem Neonatal Biológica em Recém-nascidos Prematuros** sob a responsabilidade de **Suzana Nesi França**, nas nossas dependências até o seu final em **20/12/2015**.

Estamos cientes que para a realização deste estudo serão utilizados dados dos cartões de coleta do Teste do Pezinho e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, bem como que o presente trabalho deve seguir a Resolução CNS 466/2012 e complementares.

Atenciosamente,

\_\_\_\_\_

Responsável Técnico (nome e assinatura)

Data:

## APÊNDICE 2

### COMUNICADO ENVIADO ÀS MÃES SOLICITANDO A SEGUNDA COLETA

#### Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Paraná

##### Escola Ecumênica

Av. Prof. Lothário Meissner, 836, Jd. Botânico  
80210-170 - Curitiba - PR - Fone: 413111-1800



##### Escola Ecumênica Juril Carnasciali

R. Dr. Alarico Vieira de Alencar, 07 - Bacacheri  
82520-760 - Curitiba - PR - Fone: 413362-5245

Curitiba,

Prezada Sra.

A Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional, responsável pela realização do Teste do Pezinho em todos os recém-nascidos do Estado do Paraná, vem através deste comunicado lembrar que os recém-nascidos prematuros (nascidos com idade gestacional até 36 semanas e 6 dias) devem realizar uma segunda coleta do Teste do Pezinho após 20 dias de vida, devido a possíveis resultados falso-normais. Até o momento não foi registrado em nosso laboratório a entrada da segunda coleta de seu filho (a). Recomendamos que a coleta seja realizada o mais breve possível na Unidade de Saúde mais próximo de sua casa.

Se esta coleta já foi realizada, desconsidere este aviso.

Atenciosamente,

FUNDAÇÃO ECUMÊNICA DE PROTEÇÃO AO EXCEPCIONAL  
Serviço de Referência em Triagem Neonatal

[www.fepe.org.br](http://www.fepe.org.br)

C.N.P.J. 76.693.076/0001-1  
Registro no Conselho Nacional de Serviço Social (CNAS) nº 28987.008609/93-26  
Declarada de Utilidade Pública Estadual conforme lei nº6280, de 02/06/1972  
Declarada de Utilidade Pública Estadual conforme lei nº4003, de 06/12/1971  
Declarada de Utilidade Pública Federal conforme decreto lei nº 50.517 de 02/05/1961 e lei nº91, de 28/08/1935

## ANEXO 1

## ESQUEMA DE COLETA PARA O "TESTE DO PEZINHO"

| Procedimento                                           | RECÉM-NASCIDO TERMO (> 37 semanas)                                                                                                                                               |                                          |                                                  |                                     |                                    |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1ª Coleta na Alta (preferencialmente após 48h de vida) | Resultado                                                                                                                                                                        | Repetir coleta (do 3º ao 8º dia de vida) | Repetir coleta (entre o 20º e o 45º dia de vida) | Repetir coleta (no 90º dia de vida) | Repetir coleta (no 6º mês de vida) |
| SIM                                                    | RN termo (37 semanas): com resultado normal                                                                                                                                      | SIM (se coleta precoce)                  | NÃO                                              | NÃO                                 | NÃO                                |
| SIM                                                    | RN termo: com resultado alterado ou inconclusivo para: Hemoglobinopatias (hemoglobina): FA Hb IND                                                                                | SIM (se coleta precoce)                  | NÃO                                              | NÃO                                 | SIM                                |
| SIM                                                    | RN termo: com resultado alterado ou inconclusivo para: Hemoglobinopatias (hemoglobina): Fa, FAS*, FAC*, FAD*, FA Hb IND**                                                        | SIM (se coleta precoce)                  | NÃO                                              | SIM                                 | NÃO                                |
| SIM                                                    | RN termo: com resultado alterado para Fenilcetonúria, Fibrose Cística, Hipotireoidismo Congênito, Deficiência de Biotinidase, Hemoglobinopatias e Hiperplasia Adrenal Congênita. | Seguir orientação do laboratório         |                                                  |                                     |                                    |

Coleta precoce: Coleta realizada com menos de 48h de vida.

(\*) Este símbolo foi conveniado pelo laboratório. Quando ele se apresenta ao lado do resultado do exame significa que a concentração de hemoglobina "X" está diminuída ou indetectável e, portanto, pode haver falsos positivos. A criança necessita repetir o exame no tempo recomendado para afastar essa suspeita.

(\*\*) Hb IND (hemoglobina indetermiada).

| Procedimento                                           | RECÉM-NASCIDO PREMATURO (< 37 semanas) ou extremo baixo peso (<1.500g)            |                                          |                                                  |                                    |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1ª Coleta na Alta (preferencialmente após 48h de vida) | Resultado                                                                         | Repetir coleta (do 3º ao 8º dia de vida) | Repetir coleta (entre o 20º e o 45º dia de vida) | Repetir coleta (no 3º mês de vida) |
| SIM                                                    | RN prematuro (< 37 semanas) ou extremo baixo peso (<1.500g): com resultado normal | SIM (se coleta precoce)                  | SIM                                              | NÃO                                |
| SIM                                                    | RN prematuro: com resultado alterado ou inconclusivo                              | Seguir orientação do laboratório         |                                                  |                                    |

Coleta precoce: Coleta realizada com menos de 48h de vida.

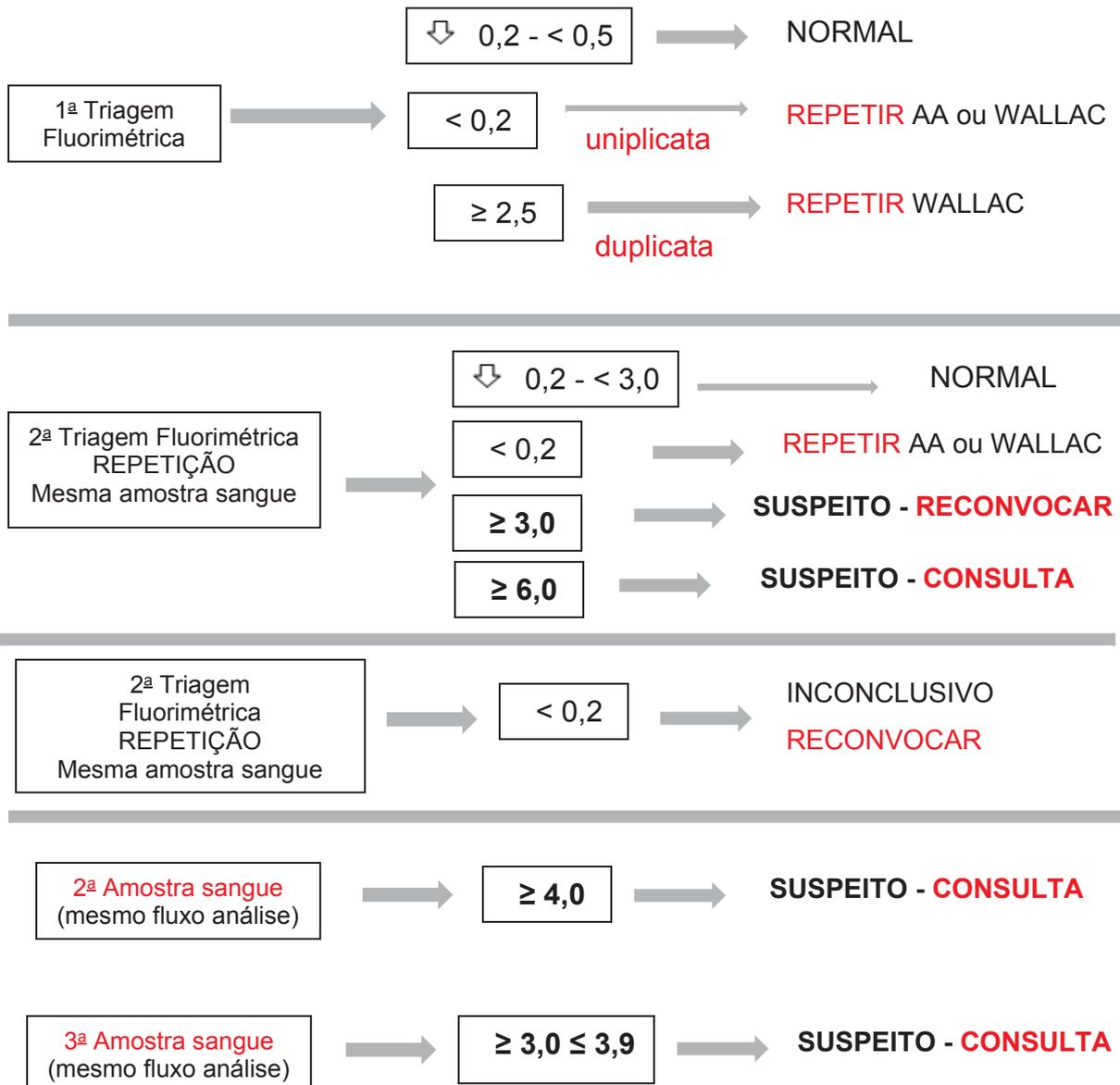
| Procedimento                                           | RECÉM-NASCIDO SUBMETIDO À TRANSFUSÃO                                              |                                              |                                                  |                                    |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1ª Coleta na Alta (preferencialmente após 48h de vida) | Resultado                                                                         | Repetir coleta (no 7º dia após a transfusão) | Repetir coleta (entre o 20º e o 45º dia de vida) | Repetir coleta (no 3º mês de vida) |
| SIM                                                    | RN termo (> 37 semanas): com resultado normal                                     | SIM (se coleta precoce)                      | NÃO                                              | NÃO                                |
| SIM                                                    | RN prematuro (< 37 semanas) ou extremo baixo peso (<1.500g): com resultado normal | SIM                                          | SIM                                              | NÃO                                |
| SIM                                                    | TRANSFUSÃO ANTES DE 48h DE VIDA                                                   |                                              |                                                  |                                    |
| SIM                                                    | RN prematuro (< 37 semanas) ou extremo baixo peso (<1.500g): com resultado normal | SIM (se coleta precoce)                      | SIM                                              | NÃO                                |
| SIM                                                    | TRANSFUSÃO APÓS 48h DE VIDA                                                       |                                              |                                                  |                                    |
| SIM                                                    | RN termo ou prematuro: com resultado alterado ou inconclusivo                     | Seguir orientação do laboratório             |                                                  |                                    |

Coleta precoce: Coleta realizada com menos de 48h de vida.



## ANEXO 3

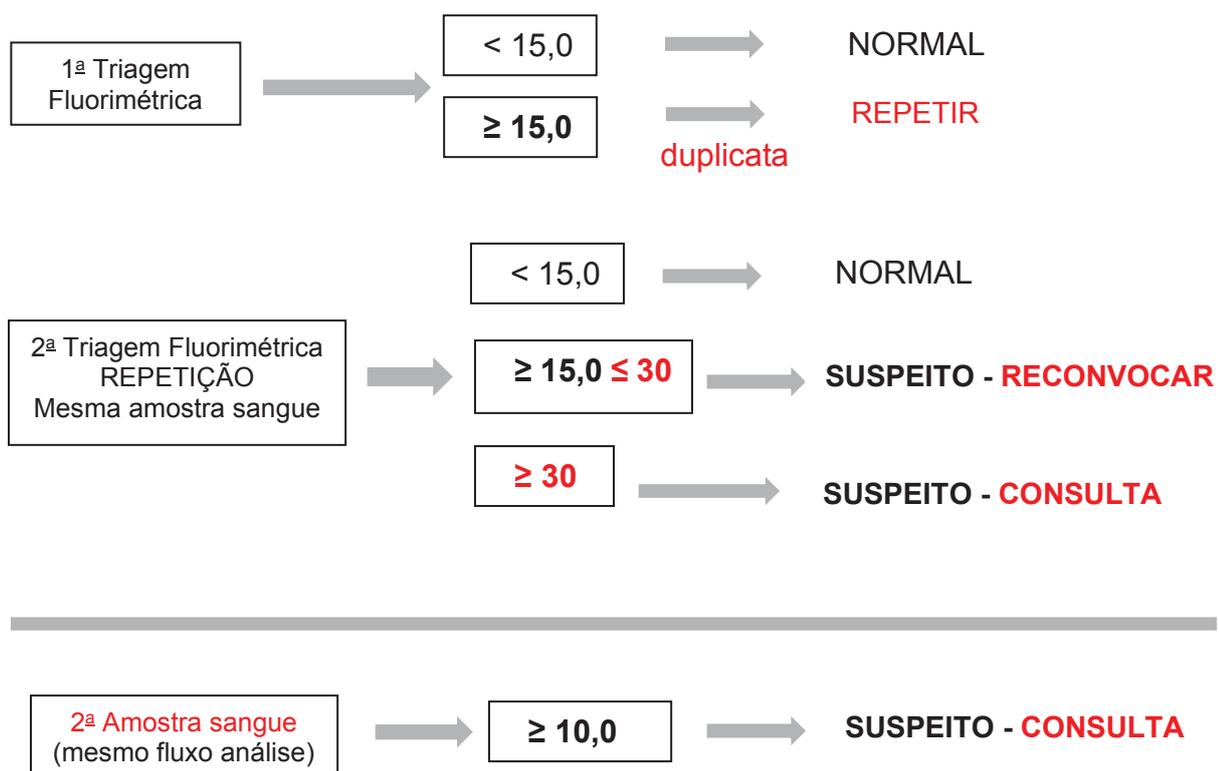
FLUXOGRAMA – FENILCETONÚRIA  
WALLAC



## ANEXO 4

### FLUXOGRAMA – HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO WALLAC

NeoTSH (Idade da criança = menor que 48h de vida)

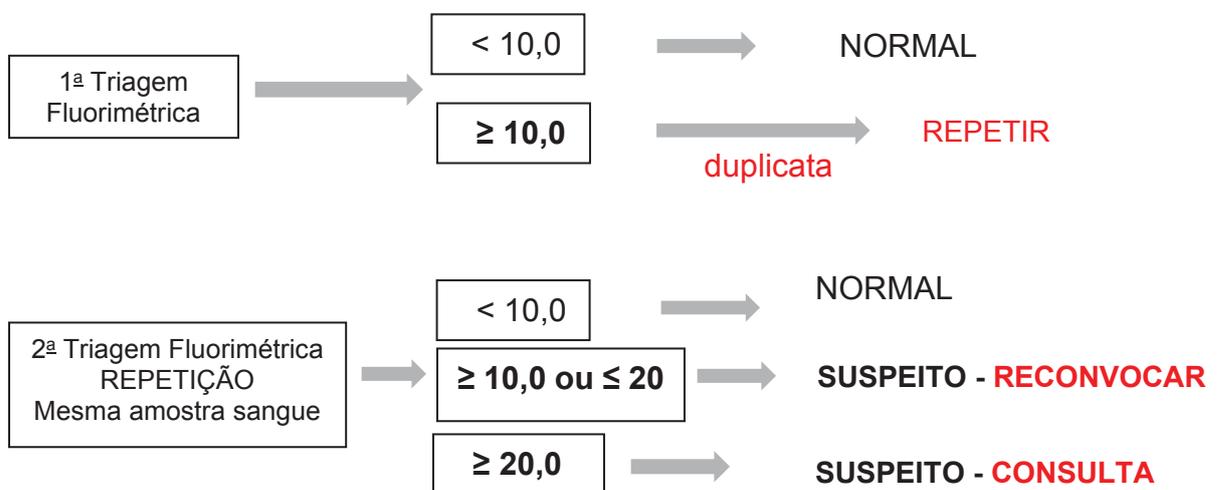


Modificado em reunião disciplinar de 12/11/2014

## ANEXO 5

## FLUXOGRAMA – HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

## WALLAC

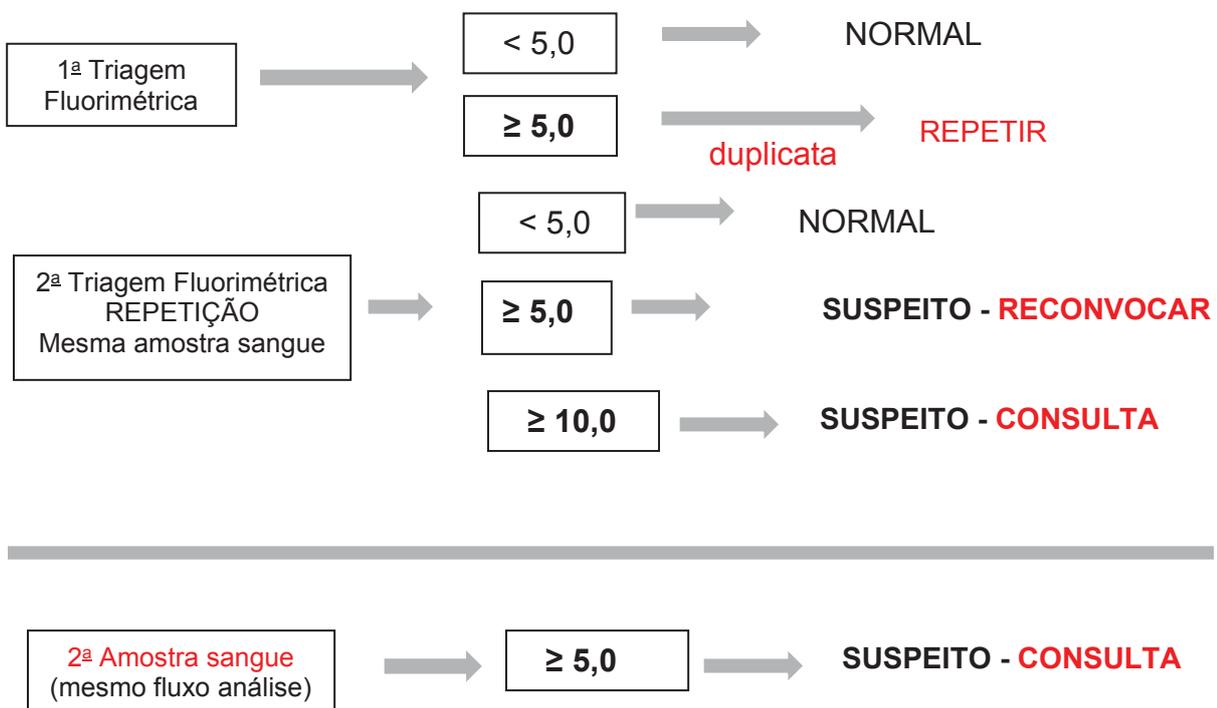
NeoTSH (Idade da criança = Maior que 48h de vida até 6 meses)

Prematuro – repetir teste **ENTRE 20º E O 45º** dia de vida

## ANEXO 6

### FLUXOGRAMA – HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO WALLAC

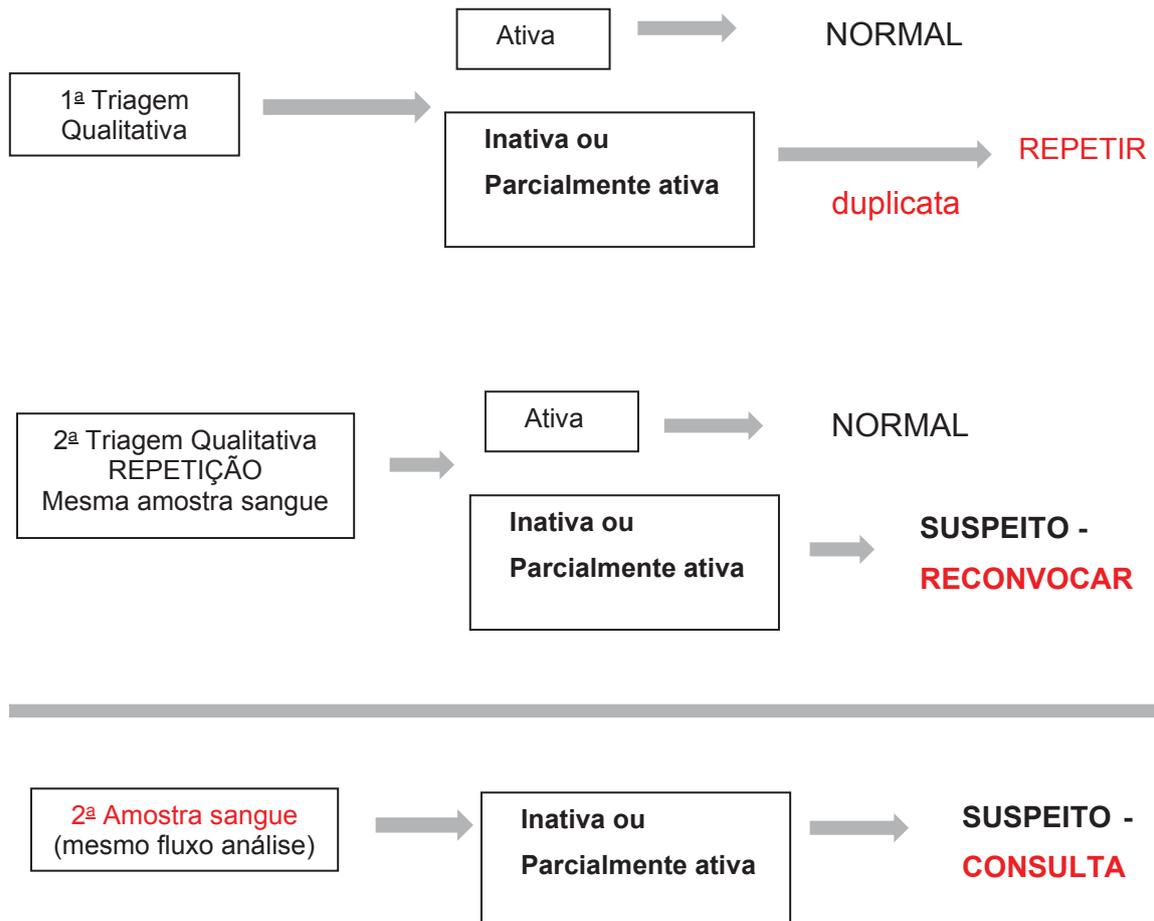
NeoTSH (Idade da criança = maior que 6 meses)



Modificado em 05/06/2013

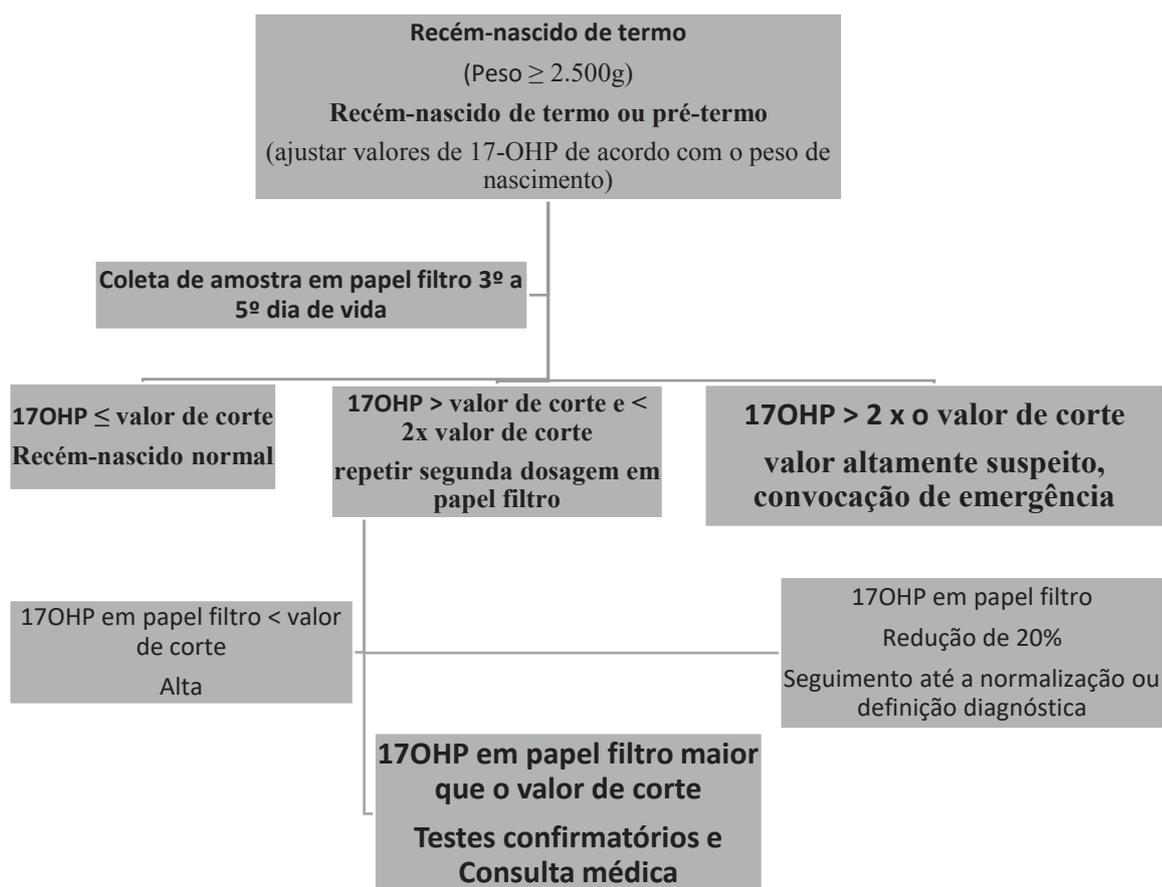
## ANEXO 7

## FLUXOGRAMA – DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE



## ANEXO 8

### Fluxograma da Triagem Neonatal da Hiperplasia Adrenal Congênita

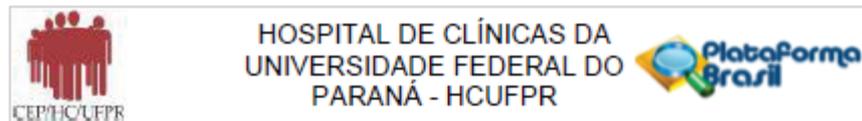


#### VALORES DE CORTE DA 17-HIDROXIPROGESTERONA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

| Classificação do peso do RN      |                                 |                                   |                                    |
|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| < 1500g                          | 1501g – 2000g                   | 2001g – 2500g                     | > 2501g                            |
| 1ª coleta:<br>17-OHP ≥ 110 ng/mL | 1ª coleta:<br>17-OHP ≥ 43 ng/mL | 1ª coleta:<br>17-OHP ≥ 28,2 ng/mL | 1ª coleta:<br>17-OHP ≥ 15,01 ng/mL |
| 2ª coleta:<br>17-OHP ≥ 135 ng/mL | 2ª coleta:<br>17-OHP ≥ 53 ng/mL | 2ª coleta:<br>17-OHP ≥ 32 ng/mL   | 2ª coleta:<br>17-OHP ≥ 17 ng/mL    |

FONTE: FEPE (2015).  
LEGENDA: 17-OHP: 17-hidroxiprogesterona

## ANEXO 9



Continuação do Parecer: 725.555

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa é pertinente; não haverá abordagem direta aos participantes e nem intervenções; mas como se trata de um estudo prospectivo, a aplicação de TCLE é obrigatória aos responsáveis pelas coletas de amostras e que responderão os questionários.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Novos documentos anexados estão adequados.

**Recomendações:**

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

As pendências foram atendidas. A pesquisadora deve ter cuidado com a guarda da documentação pois o TCLE está no mesmo anexo do questionário.

Projeto considerado aprovado.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional N° 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Manter os documentos da pesquisa arquivado.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.]