

TRIAGEM NEONATAL DE DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE - RESULTADOS DE UM PROJETO PRIVADO NO BRASIL



Eduardo Vieira Neto; Marta A. R. Faria; Michaela J. N. Lima; Jacqueline H. R. Fonseca; Armando A. Fonseca

Diagnósticos Laboratoriais Especializados - DLE, Rio de Janeiro, RJ

Introdução

A biotinidase (EC 3.5.1.12) é a enzima responsável pela reciclagem endógena de biotina, a partir de biocitina ou pequenos peptídeos biotinilados obtidos pela degradação proteolítica parcial ou total de holocarboxilases. Ela também libera biotina ligada a proteínas da dieta, trazendo-a para a forma livre biologicamente ativa [1].

A biotina é uma vitamina hidrossolúvel necessária como cofator para o funcionamento adequado da acetil-CoA carboxilase (EC 6.4.1.2), piruvato carboxilase (EC 6.4.1.1), propionil-CoA carboxilase (EC 6.4.1.3) e metilcrotonoil-CoA carboxilase (EC 6.4.1.4) [2].

A deficiência de biotinidase é um distúrbio metabólico de herança autossômica recessiva causada pela atividade deficiente da biotinidase. Nessa condição, a biotina endógena não pode ser reciclada, nem a biotina ligada a proteínas da dieta pode ser liberada [3].

As manifestações clínicas da doença geralmente aparecem do segundo ao quinto mês de vida, embora sinais neurológicos sutis possam ocorrer no período neonatal. Alguns pacientes desenvolvem sintomas somente após vários anos. Os sintomas clínicos da doença são altamente variáveis. Quando não são tratados, os pacientes desenvolvem distúrbios neurológicos, que podem incluir convulsões, hipotonia, ataxia, atraso no desenvolvimento, problemas de visão e perda auditiva e manifestações cutâneas - alopecia, dermatite e susceptibilidade a infecções por fungos [3].

A deficiência de biotinidase satisfaz os critérios de inclusão em programas de triagem neonatal porque: 1. a doença não é clinicamente reconhecível ao nascimento; 2. as crianças com deficiência de biotinidase que não são diagnosticadas precocemente podem ter danos neurológicos irreversíveis; 3. o aparecimento de sinais e sintomas clínicos pode ser prevenido pela reposição oral contínua da biotina; 4. o tratamento é simples, barato e altamente eficaz [4]. Assim sendo, a deficiência de biotinidase foi incluída no Programa Nacional de Triagem Neonatal - PNTN em 2012 [5].

Objetivos

Cerca de 50 milhões de brasileiros possuem algum tipo de cobertura por plano privado de saúde [6]. Os laboratórios privados oferecem testes de triagem neonatal para essa população. Este estudo procura avaliar a taxa de testes iniciais de triagem positivos - taxa de reconvocação, o valor preditivo positivo e a incidência de deficiência de biotinidase (parcial ou profunda) em neonatos cujas amostras foram analisadas por um laboratório privado.

Metodologia

Um estudo retrospectivo foi conduzido em amostras de sangue seco em papel de filtro - SPF para triagem neonatal, recebidas de janeiro de 2014 a dezembro de 2016. As amostras de SPF foram coletadas de neonatos por punção de calcanhar após 24 horas de vida. A atividade da biotinidase foi determinada utilizando-se o kit *PerkinElmer Neonatal Biotinidase* (Wallac Oy, Finlândia). Trata-se de um ensaio fluorométrico semi-quantitativo cujo princípio é a clivagem pela biotinidase da amostra do substrato biotinil-6-aminoquinolina, gerando um produto fluorescente, 6-aminoquinolina. A conversão é medida por um fluorômetro com comprimento de onda de excitação de 355 nm e comprimento de onda de emissão de 460 nm. A atividade é expressa como unidades enzimáticas (U), onde 1 U = 1 nmol do produto final, formado durante um minuto a partir de um decilitro de sangue (1 nmol/ min/ dl). Os recém-nascidos com atividade de biotinidase <70 U foram reconvocados para novo teste numa segunda amostra de SPF. O nível de corte proposto não foi concebido para diferenciar a deficiência de biotinidase parcial e profunda.

Resultados

Amostras de 172.520 neonatos de vários estados brasileiros foram submetidas à triagem entre 2014 e 2016. Um total de 204 (0,12%) recém-nascidos foram reconvocados para novo teste numa segunda amostra de SPF, pois a primeira amostra apresentou uma atividade de biotinidase <70 U. Foi possível obter uma segunda amostra de 152 neonatos, correspondendo a uma resposta positiva de 74,5% à reconvocação. Onze crianças (1 em 15.684) apresentaram baixa atividade de biotinidase na amostra de reconvocação. Não foram empregados testes confirmatórios para caracterizar a deficiência de biotinidase como parcial ou profunda neste estudo. O valor preditivo positivo foi de 5,4%, considerando que todos os recém-nascidos com atividade de biotinidase persistentemente baixa possuíam algum grau de deficiência de biotinidase. Além disso, assumindo-se que todos os pacientes dos quais uma segunda amostra não pôde ser obtida como falsos positivos, a taxa de falsos positivos foi de 0,11%. A Figura 1 resume esses resultados.

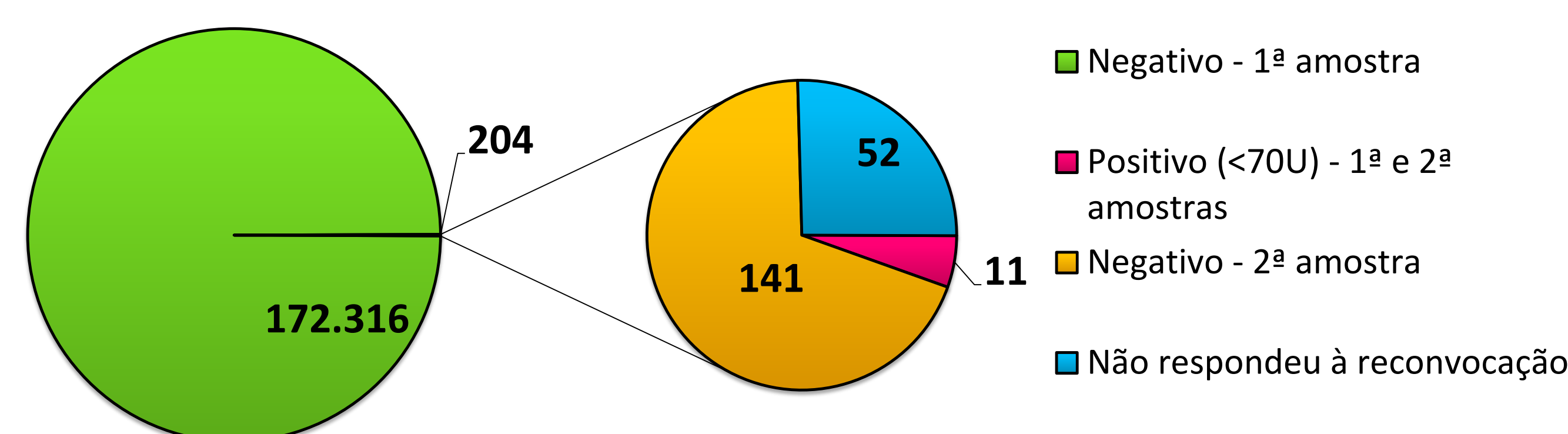


Figura 1. Resultados da triagem de deficiência de biotinidase de 172.520 neonatos do Brasil. Um total de 204 neonatos apresentaram resultados suspeitos de deficiência de biotinidase - <70 U na primeira amostra. Foi possível obter uma segunda amostra de SPF de 152 desses neonatos. Onze neonatos apresentaram resultados de atividade de biotinidase persistentemente baixos, enquanto a segunda amostra de 141 neonatos revelou atividade normal.

Conclusões

A taxa de reconvocação encontrada nesse estudo (0,12%) foi comparável à relatada por outros autores brasileiros - Pinto *et al.* [7] - 0,17%, no Paraná, e Neto *et al.* [8] - 0,12%, no Rio Grande do Sul, ambos estudos conduzidos em estados do Sul, mas superior à calculada a partir dos dados informados por Lara *et al.* [9] - 0,07%, em Minas Gerais, Sudeste do Brasil. Todos esses autores empregaram um método colorimétrico para a triagem inicial da deficiência de biotinidase. Além disso, as taxas de falsos positivos calculadas a partir dos dados relatados por Pinto *et al.* [7] - 0,12%, e Neto *et al.* [8] - 0,11% foram quase idênticas à nossa - 0,11%, mas superior à calculada para Lara *et al.* [9] - 0,07%. As taxas de prevalência relatadas por esses três autores foram divergentes. Pinto *et al.* [7] mostraram uma prevalência combinada de deficiência de biotinidase profunda e parcial ao nascimento de 1:62.500; Lara *et al.* [9] relataram uma prevalência intermediária de 1:22.861, e Neto *et al.* [8] a prevalência mais alta - 1:9.000. Como nem um teste confirmatório quantitativo em soro, nem uma análise molecular foram feitos para os 11 pacientes que mostraram repetidamente baixa atividade de biotinidase, nossa taxa de 1 em 15.684 não pode ser interpretada como uma verdadeira taxa de prevalência. No entanto, nossos resultados corroboram claramente a adequação da inclusão da triagem de deficiência de biotinidase no Programa Nacional de Triagem de Neonatal no Brasil.

Referências

1. Wolf B, Heard GS, McVoy JR, Raetz HM. Biotinidase deficiency: the possible role of biotinidase in the processing of dietary protein-bound biotin. *J Inherit Metab Dis.* 1984; 7 Suppl 2: 121-122.
2. Moss J, Lane MD. The biotin-dependent enzymes. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1971; 35: 321-442.
3. Wolf B. Biotinidase Deficiency. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al., eds. *GeneReviews(R)*. Seattle (WA) 1993.
4. Wolf B, Heard GS, Jefferson LG, Proud VK, Nance WE, Weissbecker KA. Clinical findings in four children with biotinidase deficiency detected through a statewide neonatal screening program. *N Engl J Med.* 1985; 313(1): 16-19.
5. de Carvalho TM, dos Santos HP, dos Santos IC, Vargas PR, Pedrosa J. Newborn screening: a national public health programme in Brazil. *J Inherit Metab Dis.* 2007; 30(4): 615.
6. Sestelo JA, Souza LE, Bahia L. [Private health insurance in Brazil: approaches to public/private patterns in healthcare]. *Cad Saude Publica.* 2013; 29(5): 851-866.
7. Pinto AL, Raymond KM, Bruck I, Antoniuk SA. [Prevalence study of biotinidase deficiency in newborns]. *Rev Saude Publica.* 1998 Apr;32(2):148-52.
8. Neto EC, Schulte J, Rubim R, Lewis E, DeMari J, Castilhos C, et al. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: biochemical and molecular characterizations. *Braz J Med Biol Res.* 2004 Mar;37(3):295-9.
9. Lara MT, Gurgel-Giannetti J, Aguiar MJ, Ladeira RV, Carvalho NO, Del Castillo DM, et al. High Incidence of Biotinidase Deficiency from a Pilot Newborn Screening Study in Minas Gerais, Brazil. *JIMD Rep.* 2015;24:103-7.