

Rastreamento neonatal de imunodeficiências primárias: testes de quantificação de TREC e KREC

Parecer técnico-científico: eficácia, segurança e informações econômicas

Fevereiro de 2019

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	4
LISTA DE TABELAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	6
1 DESCRIÇÃO DA DOENÇA RELACIONADA À UTILIZAÇÃO DA TECNOLOGIA	7
1.1 Visão geral da doença	7
1.2 Epidemiologia	9
1.3 Fisiopatologia	10
1.4 Diagnóstico	11
1.5 Classificação	15
1.6 Tratamento	15
1.6.1 SCID	15
1.6.2 Agamaglobulinemia	17
1.7 Impacto econômico da doença.....	17
2 DESCRIÇÃO DA TECNOLOGIA PROPOSTA	21
2.1 TRECs.....	22
2.2 KRECs	22
3 DESCRIÇÃO DAS TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS	23
3.1 Ausência de rastreamento neonatal para SCID e agamaglobulinemia	23
3.2 Análise crítica comparativa com outros testes cobertos no âmbito do rastreamento neonatal de rotina.....	28
4 EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS	32
4.1 Questão do Estudo.....	32
4.1.1. População.....	32
4.1.2. Comparação	32
4.2 Estratégia de busca	32
4.2.1. Fontes de dados	32
4.2.2. Vocabulário controlado.....	33
4.4 Critérios de seleção e exclusão dos artigos	36
4.5 Critérios de qualidade.....	36
4.6 Resultados da busca realizada	37
4.6.1. Seleção dos artigos.....	37
4.6.2. Resumo das principais características e limitações dos estudos incluídos	38
4.6.3. Avaliação crítica	42
4.6.4. Análise da qualidade da evidência	42
4.6.5. Descrição dos estudos selecionados	42
Revisões sistemáticas	43
Van der Spek et al 2017(55).....	43
Estudos individuais de diagnóstico (coortes e séries de caso)	52
Olbrich et al 2014(77)	52
de Felipe et al(74)	54
Kanegae et al 2016(3)	56
Blom et al 2017(73)	57
Kanegae et al 2017(10)	58

Nourizadeh et al 2017(76)	59
Richards et al 2017(79)	60
Tagliaferri et al 2017(80)	61
Kwan et al 2015(75).....	62
Barbaro et al 2017(39).....	63
Rechavi et al 2017(78)	65
4.7 Resultados da busca realizada (Estudos econômicos)	68
4.7.1. Seleção dos artigos.....	68
4.7.2. Descrição dos estudos econômicos selecionados	68
McGhee et al 2005(83)	68
Chan et al 2011 (84).....	70
Kubiak et al 2014 (30)	71
Modell et al 2014(29)	73
Clément et al 2015(31)	75
Ding et al 2016(85)	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
6 REFERÊNCIAS	79
ANEXO 1. BASES DE DADOS PARA BUSCA DE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS	88
ANEXO 2. NÍVEIS DE EVIDÊNCIA CIENTÍFICA SEGUNDO A CLASSIFICAÇÃO DE <i>OXFORD CENTER FOR EVIDENCE-BASED MEDICINE (Testes de diagnóstico)</i>	89
ANEXO 3. FICHAS DE AVALIAÇÃO CRÍTICA DOS ESTUDOS ANALISADOS.....	90
ANEXO 4. ESTUDOS EXCLUÍDOS	96

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ANS	Agência Nacional de Saúde Suplementar
ARA	Agamaglobulinemia autossômica recessiva
AVG	Anos de vida ganhos
CRD	<i>Center for Reviews and Dissemination</i>
EUA	Estados Unidos da América
G-6-PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
IC	Intervalo de confiança
IDP	Imunodeficiências primárias
IgG	Gamaglobulina
IGH	Imunoglobulina humana
KREC	Círculos de excisão de recombinação de deleção de kappa (do inglês <i>kappa-deleting recombination circles</i>)
LCT	Linfopenia de células T
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês, <i>polymerase chain reaction</i>)
QALY	Anos de vida ajustados pela qualidade
qRT-PCR	PCR quantitativo em tempo real
RCEI	Razão de custo-efetividade incremental
SCID	Imunodeficiência combinada grave
SUS	Sistema Único de Saúde
SSS	Sistema suplementar de saúde
TCR	Receptor de células pré-T
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoéticas
TREC	Círculos de excisão do receptor de células T (do inglês, <i>T-cell Receptor Excision Circles</i>)
VPP	Valor preditivo positivo
XLA	Agamaglobulinemia ligada ao X

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos de testes propostos para rastreamento de SCID.(19)	13
Tabela 2. Manejo dos pacientes diagnosticados com SCID.(24)	16
Tabela 3. Evidência relacionada ao tratamento precoce de SCID.(36).....	24
Tabela 4. Avaliação de agamaglobulinemias e imunodeficiência combinada grave adaptado do modelo estendido de Wilson-Jungner.(35)	29
Tabela 5. Incidência de doenças com cobertura obrigatória para rastreamento neonatal.	30
Tabela 6. Questão estruturada no formato PICO.	32
Tabela 7. Termos utilizados nas estratégias de busca.	34
Tabela 8. Estratégias de busca.	35
Tabela 9. Estudos incluídos para análise - Revisão sistemáticas de estudos individuais.	38
Tabela 10. Estudos incluídos para análise – Estudos de rastreamento ou observacionais individuais (estudos piloto).	39
Tabela 11. Estudos incluídos para análise – Estudos de rastreamento ou Observacionais Individuais (Estudos de coorte de base populacional).	41
Tabela 12. Classificação da qualidade da evidência.	42
Tabela 13. Características dos estudos de série de casos de pacientes sabidamente portadores incluídos em Van Der Spek <i>et al</i> 2015.(55).....	49
Tabela 14. Características e resultados dos algoritmos utilizados para screening neonatal de SCID em estudos piloto e coortes de base populacional. Van der Spek <i>et al</i> 2015.(55)	50
Tabela 15. Casos detectados e não-detectados através do rastreamento neonatal para SCID nas coortes de base populacional analisadas por Van Der Spek <i>et al</i> 2015.(55).....	51
Tabela 16. Interpretação dos resultados dos testes em Olbrich <i>et al</i> 2014.(77).....	53
Tabela 17. Percentual de positivos após teste inicial, de positivos presumidos após o segundo teste e número total de encaminhamentos de acordo com o ponto de corte de TREC, 175.181 nascimentos 2014. Blom <i>et al</i> 2017.(73)	57
Tabela 18. Mediana, mínimos e máximos para TRECs, KRECs e ACTB em Nourizadeh <i>et al</i> 2017.(76)	60
Tabela 19. Características dos estudos de série de casos de pacientes sabidamente portadores.	66
Tabela 20. Características e resultados dos algoritmos utilizados para screening neonatal de SCID em estudos piloto e coortes de base populacional.	67
Tabela 21. Valores limites do teste de rastreamento de acordo com a disposição a pagar. McGhee <i>et al</i> 2005.(83)	69
Tabela 22. Avaliação do custo do caso-base e medidas projetadas de desfechos em saúde. Chan <i>et al</i> 2011.(84)	70
Tabela 23. Motivos de exclusão de artigos lidos na íntegra.	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Atraso entre o primeiro sintoma e o diagnóstico, e entre o diagnóstico e o tratamento, para pacientes com SCID atípica ou típica. Adaptado de Patger 2015.(37)	25
Figura 2. Óbitos relacionados ou não à disseminação de complicações após administração de vacina BCG. Adaptado de Mazzucchelli 2014.(38)	27
Figura 3. Fluxograma de seleção de estudos (eficácia e segurança).	37
Figura 4. Conteúdo de TREC neonatal de pacientes com SCID típica (a) e outras LCT (b) em diferentes centros (cores).	47
Figura 5. Características dos neonatos com rastreamento anormal que foram convocados para nova testagem.(39)	64
Figura 6. Fluxograma de seleção de estudos (Estudos Econômicos).	68
Figura 7. Curva de aceitabilidade da custo-efetividade. McGhee et al 2005.(83).....	69
Figura 8. Custos hospitalares médios para transplantes tardios e precoces. Kubiak et al, 2014. (30)	72
Figura 9. Custos médios com internações em unidades de terapia intensiva e centro cirúrgico/anestesia para transplantes tardios e precoces. Kubiak et al 2014.(30)	73
Figura 10. Ferramenta de decisão para implementação de rastreamento de SCID em recém-nascidos. Modell et al 2014.(29)	74
Figura 11. Diagrama de tornado para análise de sensibilidade univariada. Ding et al, 2016.(85)	76

1 DESCRIÇÃO DA DOENÇA RELACIONADA À UTILIZAÇÃO DA TECNOLOGIA

1.1 Visão geral da doença

As Desordens de Imunodeficiência incluem Imunodeficiências Primárias (IDP) e secundárias, ou adquiridas. As IDPs são condições geneticamente determinadas e afetam o desenvolvimento e/ou a função do sistema imune, podem ocorrer sozinhas ou como parte de uma síndrome.(1)

Dentro das IDPs, as Imunodeficiências Combinadas Graves (SCID) são a forma mais grave e têm por característica defeitos graves no desenvolvimento e função dos linfócitos T, B e NK (*natural killer*). Apesar de uma grande heterogeneidade genética entre as SCID, o fenótipo em comum da imunidade de células T prejudicada faz com que crianças com a patologia apresentem infecções oportunistas recorrentes. Os bebês portadores de SCID a princípio aparentam ser saudáveis, contudo, quando não são diagnosticados e devidamente tratados, são extremamente vulneráveis a infecções, que se tornam graves e recorrentes levando a risco de morte.(2–4)

Popularmente conhecida como “doença do menino da bolha”, SCID é caracterizada por graves defeitos da imunidade celular e humoral que tornam os bebês afetados suscetíveis a infecções oportunistas e de repetição, além de dificuldade no crescimento/desenvolvimento. Como a forma mais grave de IDP, a SCID é geralmente fatal no primeiro ano de vida a menos que seja reconhecida e tratada.(4) O diagnóstico precoce de SCID deve ser considerado uma prioridade pediátrica, porque idealmente deve ocorrer antes de realização de vacinas de patógenos vivos atenuados e/ou antes do desenvolvimento das primeiras infecções. Com isto, são evitadas as elevadas morbidade e mortalidade, sequelas, e o elevado custo de internações prolongadas para o tratamento dos múltiplos processos infecciosos graves. Essas crianças frequentemente parecem normais ao nascimento, não têm história familiar de imunodeficiência e consequentemente muitas delas não são diagnosticadas até que ocorra uma infecção grave ou fatal. Isso é importante porque o prognóstico a longo prazo de crianças com SCID e outras imunodeficiências graves pode ser acentuadamente melhorado se o diagnóstico for feito precocemente, antes do início de infecções graves.(1)

A agamaglobulinemia ligada ao X (XLA) decorre de alterações no gene BTK e prejudica o componente humoral do sistema imune. A doença é caracterizada pela ausência ou baixa contagem de linfócitos B periféricos e uma redução pronunciada nos níveis de todas as imunoglobulinas (Ig) no sangue. Crianças com XLA, por sua vez, geralmente desenvolvem os primeiros sintomas entre 3 e 9 meses de idade, quando anticorpos maternos já foram catabolizados, ainda que haja relato de casos raros com diagnóstico já na vida adulta (formas leves e infrequentes causadas por defeitos “leaky” do gene BTK). A principal característica da XLA são as infecções bacterianas recorrentes nos meninos afetados nos primeiros 2 anos de vida, sendo que 60% dos casos são diagnosticados após um episódio de infecção com risco de vida. As manifestações clínicas mais comuns incluem pneumonia, otite média, diarreia, infecções de pele, celulites, sepse e meningite. Portadores de XLA são também atipicamente susceptíveis a infecções virais entéricas, uma vez que a imunidade humoral é central no controle de patógenos enterovirais.(5,6)

Paralelamente ao seu papel central no desenvolvimento e maturação de células B, tem-se reconhecido de forma crescente a importância do gene BTK (responsável pelas alterações da XLA) na ativação de células imunes inatas como monócitos e neutrófilos, mediada por receptores do tipo Toll (TLR). Estas células têm um fenótipo pró-inflamatório associado à secreção aumentada de citocinas pró-inflamatórias e produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio. Estes mecanismos parecem estar ligados ao aumento da ocorrência de comorbidade autoimunes em portadores de XLA – doença inflamatória intestinal e artrite, por exemplo.(7)

O prognóstico de pacientes com XLA melhorou substancialmente nas últimas três décadas, consequência em particular do aumento da possibilidade de diagnóstico precoce, incluindo rastreamento neonatal, além da maior disponibilidade de esquemas antibióticos e do desenvolvimento de formulações de gamaglobulinas que permitem a terapia de reposição. Apesar de muitos indivíduos conseguirem viver uma vida relativamente normal, ainda é uma realidade o acometimento por infecções, incluindo episódios graves e o potencial desenvolvimento de sequelas.(5)

Uma vez que a XLA é uma alteração ligada ao X, pessoas do sexo masculino são afetadas. Porém, por anos, foram observados quadros de imunodeficiência em meninas muito semelhantes à XLA e imunologistas sugeriram então que há formas de agamaglobulinemia com herança autossômica recessiva (ARA).(8)

Desta forma, desde 1996, diversos genes que causam ARA foram identificados:(8)

- μ de cadeia pesada (IGHM)
- $\lambda 5$ (IGLL1)
- Ig α (CD79A)
- Ig β (CD79B)
- BLNK (BLNK)

Todos estes genes codificam proteínas que trabalham com a BTK para dar suporte à maturação das células pró-B em células pré-B. Pacientes com mutação em qualquer destes genes apresentam achados clínicos e laboratoriais muito similares àqueles vistos em pacientes com mutações na BTK.(8) Tais mutações também podem ser detectadas pelo exame KREC.

1.2 Epidemiologia

Estimativas iniciais da incidência de SCID indicavam cerca de 1 em 100.000 nascidos vivos (3,4,9), embora já sabido que em populações étnicas específicas essa incidência é maior para certos tipos específicos de SCID, devido a mutações genéticas, como por exemplo o ADA-SCID que, na população Somali, tem uma incidência de 1 em 5.000 e as mutações do gene DCLRE1C (Artemis) que ocorrem nos Navajo Norte-Americanos numa incidência de 1 em 2000.(4) A partir da introdução dos testes de rastreio nos Estados Unidos (EUA), com base nos dados combinados de vários estados, a incidência de SCID nos EUA passou a ser estimada em 1 em 58.000 nascidos vivos. Estes dados confirmam a suspeita de SCID com uma incidência maior do que o originalmente previsto.(9)

No Brasil, assim como ocorreu nos EUA previamente ao início do rastreamento do recém-nascido, acredita-se que a incidência seja subestimada, com muitas crianças morrendo antes de ter o diagnóstico. Portanto, a incidência da SCID no Brasil é ainda desconhecida e apenas os pacientes com história familiar de imunodeficiências primárias têm a oportunidade de se beneficiar do diagnóstico precoce.(10) No entanto, 80% dos casos não têm história prévia e o diagnóstico geralmente ocorre apenas quando as infecções recorrentes já resultaram em sequelas(3).

Entre 1996 e 2010, foram diagnosticados 70 casos de SCID no país em 23 centros. Considerando a incidência dos EUA (0,17 casos por 10.000 nascidos vivos) e a média de

nascimentos nesses 15 anos (2.900.000 nascidos vivos/por ano de 1996 a 2010) seriam 750 casos da doença nesse período, o que mostra que cerca de 90% dos casos não foram diagnosticados corretamente ou a tempo.(3) Considerando esses mesmos 2,9 milhões de nascimentos por ano no Brasil, poderíamos diagnosticar aproximadamente 50 pacientes por ano de uma doença que tem uma alta taxa de mortalidade.(10) A incorporação da quantificação de círculos de excisão do receptor de células T (TRECs, do inglês, *T-cell Receptor Excision Circles*) e círculos de excisão de recombinação de deleção de kappa (KRECs, do inglês, *Kappa-deleting Recombination Excision Circles*) na triagem neonatal em outros países têm beneficiado um número significativo de pacientes com SCID e trará importantes benefícios para o Brasil também.

Em relação à XLA, a doença corresponde a 6-11% do total de diagnósticos de IDPs, com incidência relatada de 1/200.000 nascidos vivos na Suíça, 1/10.000.000 a 1/20.000.000 de nascidos vivos na Espanha, 1/100.000 a 1/285.000 nascidos vivos na Noruega e 1/379.000 nascidos vivos nos EUA.(11) Com base nestes dados, a XLA é a segunda forma mais frequente de deficiência primária de anticorpos, ficando atrás apenas da imunodeficiência comum variável.(12) Por sua vez, a prevalência estimada de XLA é de aproximadamente 3:1.000.000-6:1.000.000 indivíduos do sexo masculino em todos os grupos étnicos.(5) Para a ARA, a incidência foi estimada como igual a 1 para cada 2.000.000 de nascidos por ano.(13)

1.3 Fisiopatologia

As SCID são causadas por diversas mutações em genes diferentes como, por exemplo, genes de receptores de citocinas, ou genes de receptores de antígenos, entre outros. Existem diversas outras causas prováveis ainda a serem descobertas. (1) As patologias englobam um grupo heterogêneo de defeitos genéticos hereditários caracterizados por grave linfopenia de células T. Dependendo do defeito genético, células B e células NK podem estar tanto presentes como ausentes. No entanto, uma vez que as células B precisam de células T para ajudar na produção de imunoglobulinas, a função das células B é prejudicada. Portanto, em pacientes com SCID, mesmo quando as células B estão presentes, elas não terão um funcionamento adequado, assim, todos os pacientes demandam terapia de reposição de imunoglobulinas precocemente para evitar incidência de infecções.(9)

Conforme previamente mencionado, ao contrário do que ocorre com a SCID, a XLA é associada a um defeito em um gene único envolvido diretamente na imunidade humoral. Outras formas

de agamaglobulinemia menos frequentes têm outros tipos de herança, incluindo outros defeitos genéticos. A agamaglobulinemia é caracterizada pela ausência ou baixa contagem de linfócitos B periféricos e uma redução pronunciada nos níveis de todas as imunoglobulinas (Ig) no sangue. No caso da XLA, é resultado de uma mutação no gene BTK no braço longo do cromossomo X (Xq21.3 a Xq22). O gene é responsável pela codificação de uma tirosinoquinase BTK que é indispensável ao desenvolvimento normal de células B, envolvendo-se diretamente na conversão de células pré-B para células B maduras. A transmissão é ligada o X, sendo indivíduos do sexo masculino os primordialmente afetados, sendo indivíduos do sexo feminino apenas portadoras passivas. A maior parte dos casos de XLA é familiar, sendo que apenas 1/3 é considerado consequência de uma mutação “de novo” no gene BTK.(5) Quando inicialmente descrita, a expectativa de vida de pacientes com XLA era de cerca de 20 anos, porém, atualmente, com a disponibilidade de terapias, os pacientes têm sobrevivido até a quarta década de vida e ou mais.(14–16)

As formas autossômicas recessivas de agamaglobulinemia se comportam igual à XLA, de forma que pacientes com mutação nos genes envolvidos na ARA apresentam achados clínicos e laboratoriais muito similares àqueles vistos em pacientes com mutações na BTK.(8) Nestes termos, a condição de agamaglobulinemia engloba tanto anormalidades genéticas com herança ligada ao X quanto as autossômicas recessivas.(8)

1.4 Diagnóstico

Nos contextos em que testes específicos para SCID e agamaglobulinemia não foram ainda implementados como rotina no rastreamento neonatal, os recém-nascidos acometidos permanecem em risco de apresentar condições infecciosas graves sem que o diagnóstico da doença de base seja realizado em tempo hábil, permitindo prevenção de eventos e sequelas. Neste contexto, o diagnóstico acaba acontecendo basicamente após episódios graves e/ou recorrentes de infecções atípicas, acionando o alerta dos provedores de cuidado sobre a possibilidade de uma IDP.

Classicamente, as infecções adquiridas descritas para SCID são pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*; infecção disseminada secundária à vacinação por BCG; diarreia recorrente que pode ser causada pela administração inadvertida de vacina viva contra rotavírus; citomegalovírus persistente e grave, adenovírus ou outras infecções virais; candidíase oral; e infecções bacterianas, micobacterianas e fúngicas invasivas.(4) Já para agamaglobulinemia, otite

recorrente é a infecção mais frequente antes do diagnóstico, sendo que conjuntivite, infecções de vias aéreas, diarreia e infecções de pele também são comumente vistas. Pneumonia, empiema, meningite, sepse, celulite ou artrite séptica são os eventos que acabam levando ao diagnóstico em cerca de 60% dos pacientes com agamaglobulinemia, que também com frequência falham no desenvolvimento de anticorpos para os antígenos vacinais como tétano, influenza e *S pneumoniae*, sendo estas infecções também notadamente comuns. Indivíduos com agamaglobulinemia não apresentam em geral a maioria das infecções virais, no entanto, estão mais susceptíveis a infecções enterovirais, frequentemente manifestadas como dermatomiosite ou meningoencefalite crônica.(5)

Pacientes com XLA ou ARA não devem receber vacinas com vírus vivos, como: pólio; sarampo, caxumba e rubéola (MMR); varicela; febre amarela; zoster, ou rotavírus. Embora incomum, é possível que com uso de tais vacinas, especialmente pólio, os pacientes com agamaglobulinemia possam transmitir as doenças cuja vacina foi desenvolvida para prevenir.(8) Dados da literatura mostram que pacientes com agamaglobulinemia se tornam secretores crônicos de vírus da pólio vacinal, quando recebem a vacina Sabin oral, o que se torna um problema de saúde pública.(17,18)

Sem o diagnóstico do problema de base e a possibilidade de desenvolver um sistema imunológico funcional, os indivíduos acometidos por SCID e agamaglobulinemia possuem grande risco de morbidade grave e inclusive mortalidade (particularmente na SCID). Puck et al 2012(19) descrevem possíveis métodos para o diagnóstico de SCID, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Métodos de testes propostos para rastreamento de SCID.(19)

Análise	Medida	Meio	Por Amostra de Sangue Seco	Comentários
Linfócitos	Hemograma completo com contagem de células brancas determinando linfócitos / uL	Teste laboratorial em sangue do cordão ou sangue pós-natal (calcanhar ou venoso)	Não	Custos, descentralizado; frequentes falsos negativos para SCID: células T oligoclonais, células B elevadas ou células maternas
Interleucina-7	Imunoensaio de IL-7	ELISA ou outro método	Talvez	Estabilidade, purificação e problemas de ensaio; possível teste de 2ª camada com TRECs, custo elevado
Proteínas de células T CD3, CD45	Imunoensaio para baixa contagem de CD3 (multiplex)	Captura de cordão fluorescente automatizada	Sim	Disponibilidade limitada; falsos negativos para células T maternas ou oligoclonais; possível teste de 2ª camada com TRECs, custo elevado
Mutação no gene SCID (SCID)	Determinação da sequência de DNA	Matriz de re-sequenciamento personalizada	Sim	Falsos negativos; possível teste de 2ª camada ou sequenciamento futuro do genoma completo, elevado custo
Círculo de excisão do receptor de células T (TRECS)	Número de cópias de juntas circulares de DNA; comparação com o segmento de DNA genômico controle	PCR quantitativa no DNA	Sim	Biomarcador para células T recém-produzidas; amostras contendo apenas DNA de baixa qualidade são inadequadas; baixo custo, rapidez na execução

O momento oportuno para o diagnóstico das SCID é o perinatal onde pode ser realizada a triagem neonatal por meio da quantificação dos TRECs, sendo um teste específico com menos limitações do que as demais alternativas atualmente disponíveis no cenário brasileiro. A contagem de TRECs tem uma alta sensibilidade para o diagnóstico neonatal da doença, que, na dependência do ponto de corte adotado para o número mínimo de TRECs normal, pode atingir até 100%. Existem questões específicas para o diagnóstico de crianças nascidas pré-termo, contudo é possível a criação de um algoritmo diferente para essa população reduzindo o número de falsos positivos. Quando também se acrescenta a avaliação de KRECs, é possível o diagnóstico de deficiências de linfócitos B (incluindo XLA) que são inclusive de maior incidência que as SCID.(20)

A idade média ao diagnóstico dos pacientes com XLA (a forma mais comum de agamaglobulinemia) tem diminuído ao longo do tempo, para 3,5 anos de idade, nas estimativas mais recentes, havendo uma correlação clara entre diagnóstico rápido e melhora dos desfechos de longo prazo em razão da diminuição do risco de danos em órgãos e sistemas resultantes de infecções precoces.(14–16)

Para agamaglobulinemia, além da suspeita baseada nas infecções típicas que acometem os indivíduos doentes, alterações laboratoriais usualmente estão presentes como uma redução significativa em todas as classes de imunoglobulinas (Ig) séricas, sendo a concentração de IgG normalmente <200 mg/dL (2 g/L) e de IgM e IgA tipicamente <20 mg/dL. Além disso, redução significativa no número de linfócitos B (células CD19+) na circulação periférica (<1%, teste confirmatório) e títulos de anticorpos para vacinas demonstrando falha no desenvolvimento de imunidade específica, como para tétano, *H influenzae* e *S pneumoniae*. Pode estar presente ainda neutropenia grave usualmente em associação com infecções por pseudomonas e estafilococo (10-25% dos pacientes). A presença de história familiar de imunodeficiências compatível com herança ligada ao X é também informativa para o diagnóstico. A confirmação, no entanto, se dá por testes genéticos que demonstram variantes patogênicas de BTK, que em tese podem ser de gene único, múltiplos genes e painéis genéticos mais amplos. Outros genes para agamaglobulinemia também devem ser pesquisados quando os pacientes, do sexo masculino ou feminino, são negativos para BTK.(5)

Mais recentemente, da mesma forma que com SCID, o diagnóstico de XLA pode acontecer ainda no período neonatal, logo após o nascimento, a partir do rastreamento neonatal utilizando contagens de KRECs. KRECs são peças circulares, episomais de DNA que são produzidas durante a recombinação V(D)J dentro do *locus* IGK dos linfócitos B. Sendo assim, KRECs são marcadores intermediários da produção de linfócitos B pela medula óssea e podem ser quantificados usando reação em cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction*) quantitativo em tempo real. Os níveis de KREC tem sido descritos como ausentes ou significativamente reduzidos em amostra de sangue seco obtidas no rastreamento neonatal de pacientes com XLA, enquanto que as contagens de TRECs, nestes indivíduos, são similares ao de controles saudáveis.(21–23)

1.5 Classificação

A classificação atual de SCID é baseada na genética subjacente e mecanismos patogênicos moleculares prevalentes e inclui o seguinte: comprometimento de sinalização mediada por citocinas, alterações na recombinação V (D) J, comprometimento da sinalização através do receptor de células pré-T (TCR), aumento da apoptose de linfócitos, ausência do timo, alterações na embriogênese do timo, fluxo de cálcio prejudicado, e outros mecanismos. As crianças com SCID apresentam em comum – independentemente do genótipo da doença – fenótipos distintos de linfócitos. Todos eles têm uma deficiência severa de células T, as que estão presentes são geralmente de origem materna ao atravessar a barreira placentária.(1)

Dependendo do tipo de SCID, as células B podem ser elevadas, normais ou ausentes, e o número variável de células NK. Portanto, de acordo com a presença ou ausência dos linfócitos T, B e NK, a SCID também pode ser categorizada fenotipicamente como T – B – NK–, T – B + NK–, T – B – NK + e T – B + NK + (com menos subtipos de ausência ou contagens acentuadamente reduzidas). O fenótipo T- B + NK -, por exemplo, é responsável por até 50% dos casos de SCID, e predominantemente ligado ao X e é causado por mutações no gene IL2RG (que codifica a cadeia gama comum do receptor de interleucina 2 e outras citocinas). Embora menos frequente, a deficiência de JAK3 produz um fenótipo similar de linfócitos T-B + NK -.(1)

1.6 Tratamento

1.6.1 SCID

Atualmente, os tratamentos curativos como o transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) e a terapia gênica podem melhorar o resultado de um paciente quando o tratamento pode ser iniciado antes que ocorram infecções graves.(19) Abaixo, a Tabela 2 traz o manejo dos pacientes diagnosticados com SCID proposta por Madkaikar *et al* 2016.(24) Adicionalmente, recomenda-se que seja suspenso o aleitamento materno até que se tenha certeza da ausência de infecções crônicas na mãe, como citomegalovirose, herpes, infecção por Epstein-Barr vírus (EBV) e hepatites.(25)

Tabela 2. Manejo dos pacientes diagnosticados com SCID.(24)

<p>No Local do Atendimento Inicial</p>	<p>a) Se o paciente for linfopênico, adie todas as vacinas de micro-organismo atenuado até que o diagnóstico final seja estabelecido.</p> <p>b) Se o TBNK / TREC estiver anormal, planeje o encaminhamento.</p> <p>c) Procurar e tratar prontamente as infecções:</p> <p>i) A terapia antimicrobiana pode precisar ser modificada à luz do diagnóstico de SCID;</p> <p>ii) Se a SCID for provável e/ou a linfopenia for grave, o tratamento deve ser iniciado enquanto aguarda resultados de diagnóstico (por exemplo, CMV/PCP em um lavado broncoalveolar);</p> <p>iii) Quaisquer crianças que tenham recebido a vacina BCG devem iniciar isoniazida e rifampicina (ou outros medicamentos adequados).</p> <p>d) Evite mais infecções:</p> <p>i) Manter criança em um cubículo na enfermaria que tenha medidas protetoras de isolamento:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mantenha as portas dos cubículos fechadas; • A lavagem rigorosa das mãos deve ser respeitada; • Os visitantes devem estar limitados a adultos saudáveis; • Funcionários com infecções (incluindo pequenas infecções do trato respiratório ou herpes labial) não devem cuidar da criança; • Se a criança precisar de investigações que não possam ser realizadas no cubículo (por exemplo, radiologia), o departamento deve estar ciente de que a criança deve ser vista imediatamente e não deve se sentar em uma área de espera com outras crianças. Se uma espera for inevitável, uma sala separada deve ser fornecida. <p>ii) Administrar cotrimoxazol profilático.</p> <p>iii) Administrar fluconazol profilático (ou outro antifúngico).</p> <p>iv) Iniciar a imunoglobulina de substituição: (mesmo se IgG normal) considerar uma dose de carga de 1 g/kg.</p> <p>Todos os produtos sanguíneos devem ser irradiados e negativos para CMV.</p>
<p>No Centro de Referência</p>	<p>a) Confirme e estabeleça um diagnóstico específico.</p> <p>b) Procurar tratar infecções prontamente (como acima).</p> <p>c) Evite mais infecções (como acima).</p> <p>d) Considere o tratamento definitivo:</p> <p>i) Transplante de células-tronco;</p> <p>ii) Terapia de reposição de imunoglobulinas;</p> <p>iii) Ensaio de terapia gênica (se aplicável no cenário clínico).</p> <p>e) Aconselhamento.</p>
<p>Avaliação Imunológica Secundária</p>	<p>A avaliação imunológica secundária depende da história, manifestações clínicas e resultados iniciais da análise de subconjuntos de linfócitos.</p> <p>a) Avaliação da resposta proliferativa de células T por estimulação <i>in vitro</i>, incluindo PHA, mitógenos pokeweed e/ou estimulação anti-CD3 para determinar a função das células T.</p> <p>b) Avaliação do enxerto materno (por análise de cromossomos sexuais para bebês do sexo masculino e por STR para bebês do sexo feminino).</p> <p>c) Teste de HIV.</p> <p>d) Estimativa de imunoglobulina (IgG, IgA, IgM e Ig).</p> <p>e) Análise de diversidade de TCR (por citometria de fluxo usando espectroscopia de TCRVb / análise imunotransferência).</p> <p>f) Avaliação da expressão de marcadores de superfície específica, como expressão de receptores de citocinas como CD132 (receptor de cadeia gama comum) ou expressão de CD127 (IL-7Ra) e expressão de moléculas de MHC de classe I/II (HLA-DR).</p> <p>g) Estudos funcionais para sinalização de anormalidades, como expressão de pSTAT5 após estimulação de IL-2.</p> <p>h) Medidas do nível de enzima (para suspeita de deficiência de ADA ou PNP).</p> <p>i) Confirmação final por identificação de mutação genética subjacente.</p>

TBNK: número de células T, células B e células NK; CMV: citomegalovírus; PCP: pneumonia por *Pneumocystis carinii*; PEG: polietilenoglicol; ADA: adenosina desaminase; PHA: fito-hemaglutinina; STR: análise curta de repetição em série; HIV: vírus da imunodeficiência humana; TCR: receptor de células T; TCRVb: repertório VB de receptores de células T; MHC: complexo maior de histocompatibilidade; PNP: nucleosídeo fosforilase de purina.

1.6.2 Agamaglobulinemia

Pacientes com agamaglobulinemia precisam receber tratamento especializado em centros com experiência no manejo da condição, competentes para identificar e tratar as manifestações, com foco na prevenção de sequelas, morbidade grave e mortalidade. Todos os indivíduos com agamaglobulinemia que desenvolverem infecções agudas devem ser tratados com um curso de antibióticos provavelmente mais longo do que aquele empregado usualmente para indivíduos saudáveis, sem demora no início da terapia (5), além de frequentemente uma dose de reforço de reposição de imunoglobulinas.

Além do tratamento das manifestações, a prevenção de infecções bacterianas é foco do manejo e em geral é obtida através da terapia de reposição de imunoglobulina humana (IGH). Formulações de IGH intravenosa e subcutânea estão disponíveis no mercado brasileiro, com características terapêuticas específicas que devem ser discutidas no contexto clínico de cada paciente e centro.(26) Além da terapia de substituição de IGH, alguns centros adotam profilaxia com antibiótico crônica.(5)

Assim, o tratamento da agamaglobulinemia no momento envolve reposição por toda a vida de IgG, seja subcutânea ou intravenosa, e o uso criterioso de antibiótico profilático. Pacientes em uso de imunoglobulinas apresentam redução de episódios de infecções sistêmicas como encefalite, meningoencefalite e sepse. No entanto, a eficácia na redução de infecções de mucosa (mais especificamente o trato sinopulmonar) é mais controverso. Alguns estudos têm indicado que estas infecções repetidas podem resultar em doença pulmonar progressiva (principalmente bronquiectasias) e significativa e dificuldades auditivas.(27)

1.7 Impacto econômico da doença

Em relação à SCID, diversos estudos avaliaram o impacto econômico da doença e seu tratamento sobre os sistemas de saúde e a sociedade. Sabe-se que os custos do tratamento de crianças com SCID é superior ao custo de rastreamento neonatal para regiões inteiras. Isto porque a identificação precoce da doença leva ao tratamento antecipado, evitando complicações graves decorrentes do desenvolvimento da SCID, que elevam o custo ao aumentar o consumo de recursos em saúde. (28,29)

A *Jeffrey Modell Foundation* desenvolveu algumas ferramentas para auxiliar a tomada de decisão do gestor sobre a custo-efetividade do rastreamento de SCID em recém-nascidos.

(28,29) Um estudo utilizando uma destas ferramentas, encontrou que o custo anual de rastrear 100.000 recém-nascidos e tratar três pacientes foi de USD 1.385.000,00; enquanto que o custo de tratar três recém-nascidos diagnosticados com SCID tardiamente foi de USD 6 milhões. (29) Este estudo torna claro o impacto da detecção e tratamentos tardio da SCID no orçamento dos sistemas de saúde frente à detecção precoce da doença.

Kubiak *et al* 2014 (30), conduziu uma análise econômica retrospectiva com o objetivo de avaliar a custo-efetividade do rastreamento em recém-nascidos para o tratamento de SCID precoce (<3,5 meses) em comparação com o tratamento tardio (≥3,5 meses) em uma população dos Estados Unidos. Foram incluídos nesta análise todos os casos de SCID tratados em três centros entre 2005 e 2011. Os custos hospitalares foram coletados retrospectivamente para todos os pacientes incluídos no estudo. Durante o período estudado, foram identificados 25 casos de SCID. O custo médio para o transplante precoce foi aproximadamente um quarto do custo do mesmo procedimento realizado tardiamente (USD 365.785 *versus* USD 1,4 milhões, respectivamente), o que significa uma economia de mais de um milhão por transplante precoce realizado. Os gastos médios individuais também foram menores para o uso do transplante precoce frente ao transplante tardio (farmácia: USD 153.450 *versus* USD 326.592; terapia intravenosa: USD 3.518 *versus* USD 8.261; suprimentos: USD 63.814 *versus* USD 81.246; e laboratório: USD 146.013 *versus* USD 226.607). Os custos médios com o tratamento intensivo e sala de cirurgia/anestesia para o tratamento tardio foram aproximadamente de cinco a quatro vezes maior que o tratamento precoce (USD 350.252 *versus* USD 66.379 e USD 57.105 *versus* USD 15.885, respectivamente), o que se justifica pela gravidade dos pacientes que receberam tratamento tardio que requerem maior período de internação em unidades de tratamento intensivo, além da possibilidade de vigência de infecção no momento do transplante. Neste cenário, o valor economizado com o tratamento precoce poderia ser empregado na triagem de milhares de crianças e ainda identificar precocemente mais um ou dois pacientes. No final mais do que ser pagar, testar os recém-nascidos e identificá-los precocemente, poupa parcela significativa dos recursos da saúde, com comprovada custo-efetividade.

Já Clément *et al* 2015(31) conduziram uma análise de custo-efetividade baseada em dados de vida real da França, também tentando compreender o impacto do diagnóstico precoce da SCID. Conforme os autores, o uso precoce de transplante de células tronco parece não apenas reduzir o custo total, mas também o custo total por criança por dia, refletindo a menor necessidade de internação em unidade de terapia intensiva. Entretanto, esta diferença não foi

significativa na amostra dado o baixo número de pacientes que receberam transplante precoce. Os autores também estimaram custos com cuidados sociais e benefícios governamentais (perspectiva da sociedade) para 16 dos 27 pacientes que foram submetidos ao transplante tardio e para os três pacientes que passaram pelo transplante antecipado. O montante mediano total fornecido para as famílias foi de EUR 9.557 (média de EUR 8.836) durante um período de um ano. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os montantes dos grupos de tratamento precoce e tardio. Os autores analisaram ainda os custos estimados com transplante comparando os pacientes com infecção ativa no momento do procedimento com aqueles sem infecção ativa. Os resultados sugerem que uma infecção ativa no momento do transplante pode contribuir para desfechos piores e maiores custos, com uma vantagem econômica de EUR 40.000 para pacientes sem infecção ativa.

Em relação à agamaglobulinemia, Bryan *et al* 2016(27) avaliou a utilização de recursos e qualidade de vida da agamaglobulinemia em um estudo observacional incluindo 15 pacientes, entre crianças e adultos, com diagnóstico de XLA ou a forma autossômica recessiva. Foram descritos o número e tipo de episódios de infecção pré e pós início da terapia de reposição de imunoglobulinas, complicações e qualidade de vida. Os prontuários médicos dos 15 pacientes (14 XLA) foram analisados, resultando em uma somatória de 150 anos de história médica. A idade mediana dos sujeitos foi de 26 anos (5-46 anos), sendo 9 adultos e 6 crianças. A idade média ao diagnóstico foi de 33 meses (16-49 meses) para a população pediátrica e 64 meses (57-110) na população adulta. Sete dos 15 pacientes recebiam imunoglobulina intravenosa e, as demais, subcutânea. Quatorze de 15 pacientes tinham níveis de IgG persistentemente acima de 6 g/dl. Todos os pacientes continuaram a ter infecções após o início da terapia com IgG, a maioria delas do trato respiratório, no entanto, infecções sistêmicas ou invasivas não foram observadas após a implementação da reposição. Antes do início da reposição de IgG, 7 episódios deste tipo haviam acontecido na amostra. A taxa de infecção na população pediátrica caiu após a implementação da terapia de 2,9 para 0,74 infecções por paciente por ano. Para 14 pacientes havia exames de imagem e testes de função respiratória disponíveis para análise, sendo que 8 deles tinham evidência de bronquiectasia. Um paciente sofria de bronquiectasia grave decorrente de XLA e passou por transplante pulmonar.(27)

A coorte de Plebani *et al* 2002(15) incluiu 73 pacientes com XLA e avaliou dados similares aos de Bryan *et al* 2016, tendo observado que 100% dos pacientes estavam em uso de IgG IV no momento da avaliação. Entre os episódios infecciosos, aqueles envolvendo o trato respiratório inferior foram a maioria (68,5%). No momento do diagnóstico, 38,5% dos pacientes com infecções do trato respiratório inferior tinham também doença pulmonar crônica, sendo que o risco de ter a doença aumentou com o aumento da idade ao diagnóstico. Além disso, o risco de ter uma doença crônica pulmonar foi mais alto entre os pacientes diagnosticados antes da introdução da terapia com IgG no país (Itália), mostrando uma possível associação entre atraso do diagnóstico e ausência de reposição de IgG com maior risco de evoluir para doença pulmonar crônica. Outras infecções presentes na amostra foram: sinusite crônica, infecção de pele, linfadenite superficial supurativa, abscessos profundos, sepse, gastroenterite, diarreia aguda e crônica e meningite. Outras manifestações apresentadas foram poliomielite associada à vacina, artrite e atraso no crescimento.

Estes dados indicam que os principais recursos e custos associados ao manejo da agamaglobulinemia dizem respeito à terapia de reposição com imunoglobulinas de longo prazo, antibióticos profiláticos em casos selecionados, manejo dos episódios infecciosos (episódios sistêmicos, invasivos e/ou infecções mais leves, incluindo respiratórias), manejo das complicações de longo prazo, incluindo doença pulmonar crônica decorrente da doença e dos quadros infecciosos sucessivos.(15,27)

2 DESCRIÇÃO DA TECNOLOGIA PROPOSTA

A tecnologia proposta neste dossiê é a adoção dos testes diagnósticos para quantificação de TRECs e KRECs no âmbito da triagem neonatal de rotina (teste do pezinho) no Sistema de Saúde Suplementar com o objetivo de diagnosticar precocemente SCID e agamaglobulinemia. Desde a introdução do teste do pezinho para rastreamento neonatal, inicialmente proposta a partir da década de 1960, o desenvolvimento tecnológico de métodos de rastreio tem levado à adição de novas doenças nos programas de rastreamento neonatal, em particular pela disponibilidade de técnicas que permitem a determinação simultânea (multiplex) de dezenas ou centenas de metabólitos nas amostras de sangue seco do papel filtro dos cartões de Guthrie, bem como de técnicas para análise de DNA e RNA.(32)

Como previamente descrito, SCID e agamaglobulinemia são condições em que há comprometimento de células B e T (entre outros). Durante o desenvolvimento normal destes tipos de células, receptores imunes conduzem processos de rearranjo para moldar suas particularidades, resultando em produtos genômicos de excisão. O rearranjo dos segmentos do gene receptor de células T, que permite a diversidade de receptores de células T (TCR), produz os chamados círculos de excisão de TCR (ou TREC) e o rearranjo do locus da cadeia leve kappa, que contribui para a diversidade de células B, vai levar à formação de círculos de excisão de recombinação de deleção de kappa (KRECs).(32) Os testes baseiam-se, assim, na quantificação de pedaços de DNA circulares formados durante a maturação de linfócitos T e B de dois tipos denominados, respectivamente, TRECs (do inglês, *T-cell Receptor Excision Circles*) e KRECs (do inglês, *Kappa-deleting Recombination Excision Circles*). Borte *et al* 2012 descreveram inicialmente um ensaio multiplex para detecção de TRECs e KRECs em uma mesma reação de cadeia de polimerase, contemplando assim não apenas SCID como outras imunodeficiências primárias de linfócitos B.(21)

Ambos são realizados a partir da análise do material disponível nos cartões de Guthrie utilizados para o teste do pezinho no rastreamento de outras condições como erros inatos do metabolismo, hemoglobinopatias etc. A recomendação atual em vários países do mundo é que ele seja feito na primeira semana de vida, junto com as demais triagens neonatais de rotina, e que seu resultado deve estar preferencialmente disponível antes da administração da vacina BCG.(33) Cada um dos testes será descrito nos itens correspondentes abaixo.

2.1 TRECs

Consiste na quantificação dos círculos de excisão do receptor de células T (TRECs) em amostras obtidas de cartões de Guthrie utilizados para o teste do pezinho. TRECs são marcadores produzidos no processo de desenvolvimento dos linfócitos T no timo. Durante a recombinação dos genes do receptor da célula T, pequenos círculos são formados a partir da excisão de segmentos de DNA, cuja identificação é feita pela amplificação por PCR, sendo que sua contagem no sangue periférico é reflexo direto da função do timo.

A contagem de TRECs tem uma alta sensibilidade para o diagnóstico neonatal da doença, que, na dependência do ponto de corte adotado para o número mínimo de TRECs normal, pode atingir até 100%. Existem questões específicas para o diagnóstico de crianças nascidas pré-termo, contudo é possível a criação de um algoritmo diferente para essa população reduzindo o número de falsos positivos. Quando também se acrescenta a avaliação de KRECs, é possível o diagnóstico de deficiências de linfócitos B (incluindo XLA) que são inclusive de maior incidência que as SCID.(20)

2.2 KRECs

Consiste na quantificação de KRECs, que são peças circulares, epissomais de DNA, produzidas durante a recombinação V(D)J dentro do *locus* IGK dos linfócitos B. Sendo assim, KRECs são marcadores intermediários da produção de linfócitos B pela medula óssea e podem ser quantificados usando PCR quantitativo em tempo real, incluindo avaliação simultânea (multiplex) de TRECs na mesma reação. Os níveis de KREC têm sido descritos como ausentes ou significativamente reduzidos em amostra de sangue seco obtidas no rastreamento neonatal de agamaglobulinemia e outras deficiências de linfócitos B. (20–23)

3 DESCRIÇÃO DAS TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS

No cenário clínico do rastreamento neonatal de SCID e agamaglobulinemia, no momento, não estão disponíveis outros testes para rastreamento neonatal destas condições, não havendo, portanto, comparadores alternativos no Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde 2018 da Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS). Por esta razão, este parecer propõe a discussão sobre a incorporação do teste de quantificação de TRECs e KRECs por comparação à ausência de rastreamento (diagnóstico tardio através da manifestação de infecções recorrentes ou graves típicas das doenças) e de forma mais ampliada comparando a incidência de SCID e agamaglobulinemia às das demais condições cujo rastreio é atualmente contemplado no Rol da ANS em sua versão 2018, bem como o atendimento dos critérios para considerar uma condição como elegível ao rastreio universal propostos pela Organização Mundial de Saúde e adotados mundialmente.

3.1 Ausência de rastreamento neonatal para SCID e agamaglobulinemia

Na prática clínica atual, considerando a indisponibilidade do rastreamento, o diagnóstico se dá majoritariamente a partir do aparecimento dos primeiros quadros infecciosos típicos das IDPs, que levam à suspeita diagnóstica que é usualmente investigada a partir da história familiar de uma IDP, anamnese buscando manifestações clínicas típicas (conforme previamente descrito), bem como de exames confirmatórios que incluem a contagem de linfócitos no sangue periférico e subpopulações até testagem genética para identificação de mutações conhecidas associadas à SCID e agamaglobulinemia.

Crianças que apresentam SCID e não são diagnosticadas precocemente podem ter sobrevida reduzida, com óbito na ausência de terapia nos primeiros 12 meses de vida, resultante de infecções graves por *Candida albicans*, *Pneumocystis jirovecii*, varicela, adenovírus, vírus respiratório sincicial, parainfluenza, CMV, EBV, e após a administração da vacina BCG.(34) Assim, as SCIDs representam um importante problema de saúde como já mencionado previamente, sendo considerada uma emergência pediátrica com risco de vida.

Os prejuízos do diagnóstico tardio da SCID, quando eventos infecciosos e suas sequelas já surgiram, são melhor exemplificados pela eficácia significativa do tratamento curativo para a doença, com aproximadamente 95% de sobrevida após o TCTH quando o transplante é realizado antes dos 3,5 meses de idade.(35)

Segundo a revisão sistemática de Lipstein *et al* 2010,(36) quatro estudos investigaram especificamente o impacto do TCTH em neonatos ou crianças. O primeiro deles foi uma coorte que comparou 21 pacientes que receberam o transplante antes de 28 dias de vida com 96 crianças que receberam o transplante após essa idade (mediana de 190 dias). A população deste estudo se sobrepôs com uma série de casos de 89 crianças que receberam transplante por SCID e foram classificadas de acordo com o recebimento do transplante antes ou depois de 3,5 meses. Adicionalmente, uma grande série de casos europeia também avaliou os desfechos de TCTH de acordo com a idade. Nos 3 estudos, a taxa de sobrevida foi substancialmente maior para crianças mais jovens. Uma série de caso de 13 crianças que receberam TCTH entre 7 e 68 dias mostrou que todas as crianças estavam vivas e saudáveis 0,5 a 11,5 anos pós-transplante (*follow-up* mediano de 3 anos).

Tabela 3. Evidência relacionada ao tratamento precoce de SCID.(36)

Autor (ano), desenho do estudo	População	Achados relevantes
Antoine <i>et al</i> (2003), série de casos	475 pacientes com SCID: 2022 tinham <6 meses de idade, 184 tinham entre 6-11 meses e 89 tinham >12 meses	Após TCTH HLA idêntico, a taxa de sobrevida variou segundo a idade no momento do transplante: 92% para crianças com <6 meses; 50% para crianças entre 6-11 meses e 31% para crianças acima de 12 meses.
Buckley <i>et al</i> (1999), série de casos	89 crianças: 22 tinham <3,5 meses e 67 tinham ≥ 3,5 meses	Taxas de sobrevida global: 95% (21 de 22) entre os que tinham <3,5 meses e 76% (51 de 67) entre os que tinham mais de 3,5 meses, <i>follow-up</i> mediano de 5,6 meses.
Kane <i>et al</i> (2001), série de casos	13 crianças que receberam TCTH entre 7 e 68 dias de idade	Todos os pacientes estavam vivos e saudáveis com 0,5 a 11,5 anos após o transplante (mediana de 3 anos); 3 crianças necessitaram de >1 transplante; 10 de 12 tinham desenvolvimento neuromotor normal; 1 de 12 tinha problemas de comunicação e interação; 1 de 12 tinha atraso motor.
Myers <i>et al</i> (2002), estudo de coorte	117 crianças: 21 receberam transplante antes de 28 dias (precoce) e 96 receberam transplante em idades mais avançadas (45–516 d, tratamento tardio)	20 de 21 (95%) que receberam tratamento precoce sobreviveram (8 meses a 19,2 anos); 71 de 96 (74%) que receberam tratamento tardio sobreviveram; valor médio de TREC aumentou mais precocemente no grupo de pacientes com TCTH-precoce, mas os dois grupos não tinham diferenças significativas aos 5 anos; transplante precoce não teve efeito na função de células B.

O estudo de Pagter *et al* 2015(37) oferece informações consistentes para análise do que seria um cenário clínico sem triagem neonatal para SCID, em que o diagnóstico se dá por manifestações clínicas e/ou história familiar, além de testes complementares apenas para casos suspeitos, resultando em tratamento tardio. O estudo analisou todos os casos de SCID diagnosticados na Holanda entre 1998-2013, sendo 43 casos confirmados de SCID, dois quais 11 eram atípicos (manifestações iniciais após 1 ano de idade). Considerando a população total

de ~180.000 neonatos/ano, a incidência projetada para o período seria de aproximadamente 1:63.000. O seguimento mediano dos pacientes foi de 66 meses (91-198 meses). A Figura 1 mostra os dados sobre intervalo desde os primeiros sintomas até o diagnóstico e entre o diagnóstico e o tratamento. Atraso no diagnóstico (mediana de 27 meses após os primeiros sintomas) foi mais pronunciado nos casos de SCID atípica comparada aos casos de típica (mediana de 2 meses desde os primeiros sintomas).

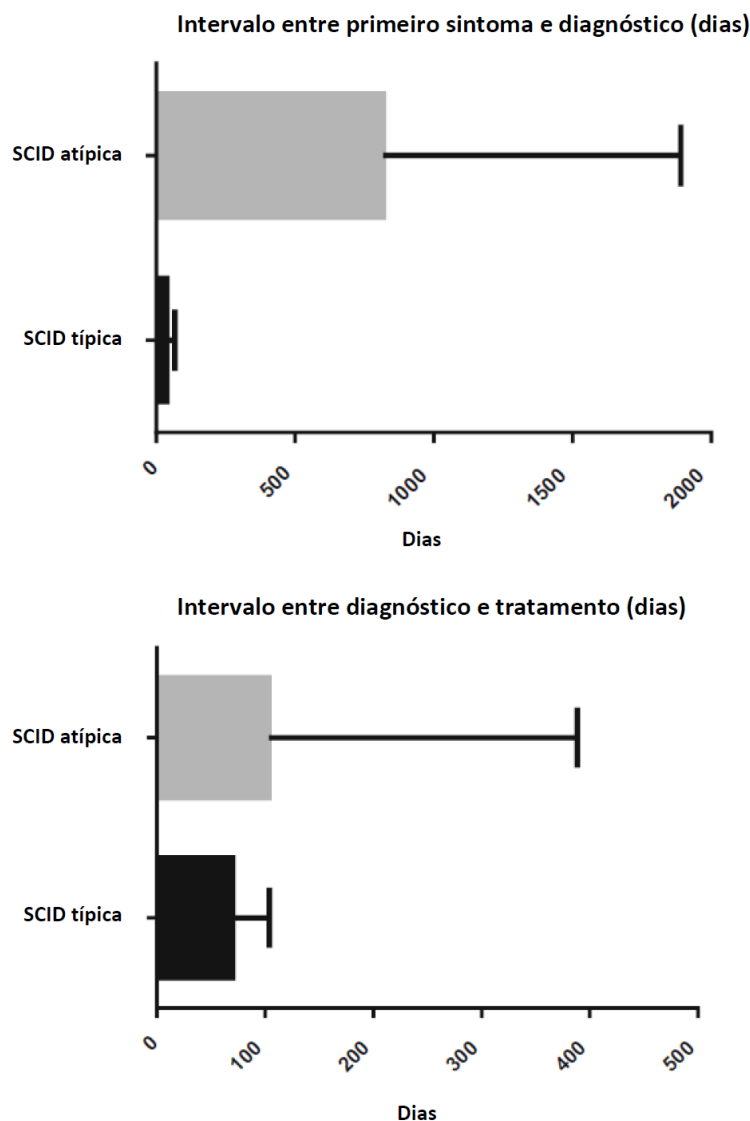


Figura 1. Atraso entre o primeiro sintoma e o diagnóstico, e entre o diagnóstico e o tratamento, para pacientes com SCID atípica ou típica. Adaptado de Patger 2015.(37)

Antes de receberem tratamento curativo, 22 pacientes desenvolveram infecções virais ou bacterianas sistêmicas e 25 tiveram infecções oportunistas. Onze dos 25 pacientes com

infecções oportunistas tiveram pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*, 8 tiveram infecção por citomegalovírus sistêmico e 6 tiveram infecções relacionadas à BCG. Destes pacientes, 8 morreram em uma mediana de 12 dias (0-88 dias) após a apresentação inicial com infecções fulminantes a despeito da implementação de tratamento antimicrobiano. Não houve associação entre o atraso no diagnóstico e mortalidade ($p=0,269$) no grupo de SCID típica, no entanto, essa observação pode se dever ao pequeno tamanho amostral do estudo. A mortalidade total foi de 42%. Entre os 32 que receberam TCTH, 8 morreram. Nove pacientes evoluíram para o óbito devido a infecções graves e suas complicações, antes que um tratamento curativo pudesse ser implementado. Três pacientes foram diagnosticados antes de apresentarem complicações infecciosas em razão de uma história familiar positiva. Em um paciente, prematuridade com linfopenia e surdez congênita estava presente e hipoplasia cartilagem-cabelo com SCID foi diagnosticada. Dois destes três pacientes receberam TCTH e um paciente recebeu terapia gênica. Este paciente evoluiu para o óbito em razão de malignidade secundária, após transferência gênica de sucesso. Do total, 34 pacientes receberam terapia curativa, dos quais 2 receberam terapia gênica. Onze de 24 sobreviventes apresentaram complicações infecciosas pós-TCTH e 2 de 24 tiveram complicações alo-reativas. Vinte e quatro de 32 pacientes foram transplantados com sucesso.(37)

Os autores concluíram que, em razão de uma alta taxa de mortalidade de pacientes com SCID antes de TCTH, somente um programa de rastreamento neonatal e implementação de tratamento precoce pode melhorar a sobrevida destes indivíduos.(37)

Um estudo conduzido no Brasil pesquisou ativamente casos de SCID para analisar seu diagnóstico, tratamento e prognóstico e documentar o impacto da vacina BCG nos pacientes com a doença. Foram localizados 23 centros e 70 pacientes de 65 famílias, nascidos entre 1996 e 2011, 70% do sexo masculino. A maioria dos pacientes (60/70) foi vacinada com BCG antes do diagnóstico, 39 de 60 (65%) desenvolveram complicações relacionadas à vacina, com complicações disseminadas em 29 de 39 (74,3%). Menos da metade dos pacientes (30, 42,9%) foram submetidos a TCTH. Trinta e cinco pacientes (50%) evoluíram para o óbito, 23 destes não submetidos a TCTH. Complicações disseminadas relacionadas à vacina BCG foram a causa da morte, isoladamente ou em associação com outras causas, em 9 dos 31 casos (29%, sem dados para 4 casos). A Figura 2 apresenta os óbitos relacionados ou não à disseminação de complicações após a vacinação. O estudo alertou para o fato de que as complicações da vacina BCG são responsáveis por morbidade e mortalidade significativas durante a progressão da

doença, o que pode ocorrer em cenários sem o rastreamento neonatal para SCID com TRECs e KRECs. (38)

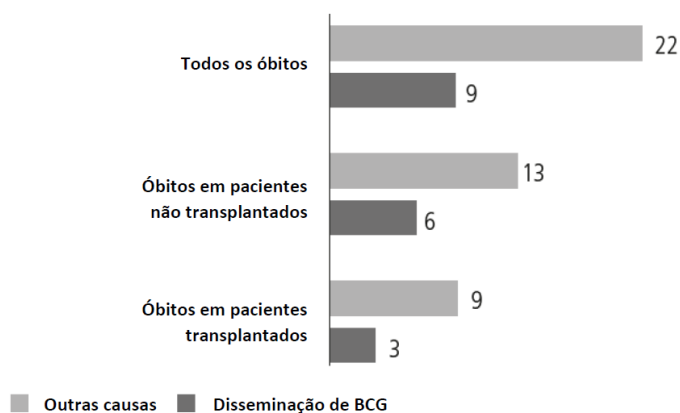


Figura 2. Óbitos relacionados ou não à disseminação de complicações após administração de vacina BCG. Adaptado de Mazzucchelli 2014.(38)

O impacto econômico decorrente da realização ou não do rastreamento e tratamento precoce de casos de SCID foi avaliado em um estudo com o objetivo de avaliar o custo-efetividade do rastreamento de SCID em recém-nascidos. De acordo com os autores, neonatos positivos para a doença e não rastreados ao nascer desenvolverão infecções significativas e hospitalizações, resultando em custos estimados em pelo menos 2 milhões de dólares no primeiro ano de vida. Os autores concluíram que a implementação do teste de rastreamento não é somente custo-efetiva como também permite o tratamento precoce que pode ser determinante para salvar a vida dos pacientes.(29)

Um estudo analítico desenvolvido sobre o gerenciamento de risco e probabilidade de identificação de casos de SCID concluiu que todas as partes interessadas, incluindo pacientes, médicos, empresas farmacêuticas, sociedade e agências de saúde governamentais, devem abordar o diagnóstico preciso mais precoce possível, intervenção e tratamento adequados, bem como controle rigoroso dos custos de saúde através de avaliação de risco e resultados. Todas as partes envolvidas são responsáveis por utilizar as ferramentas atualmente disponíveis para o rastreamento, diagnóstico precoce e tratamento imediato das SCID.(28)

3.2 Análise crítica comparativa com outros testes cobertos no âmbito do rastreamento neonatal de rotina

Em vários locais do mundo a bem-sucedida implementação da triagem neonatal para fenilcetonúria (PKU) trouxe consigo o foco na expansão da detecção de outros tipos de doenças metabólicas e outras condições. Na Suécia, por exemplo, o rastreio de PKU começou em 1965, seguido dois anos após pela adição de galactosemia, hipotireoidismo congênito em 1980, hiperplasia adrenal congênita ainda na mesma década (1986) e deficiência de biotinidase (2002). Em 2010, 19 patologias adicionais foram adicionadas usando espectrometria de massa em tandem e atualmente o programa nacional de triagem conta com 24 doenças.(39)

Para a SCID as evidências sugerem que os desfechos dos pacientes são consideravelmente melhores se a terapia definitiva com TCTH for realizada antes dos 3,5 meses de idade, antes do início de infecções graves e outras complicações, ou seja, o diagnóstico a partir da triagem neonatal representaria um momento ideal para acesso dos neonatos aos serviços de saúde antes de apresentarem complicações. Além disso, os testes podem ser realizados dentro de um sistema já existente.(39) Pacientes com agamaglobulinemia, por sua vez, também se beneficiam de diagnóstico precoce, que permita a implementação de terapia de reposição, profilaxia com antibiótico e identificação e tratamento imediato de eventos infecciosos.(5)

Em 1968, James Maxwell Glover Wilson e Gunnar Jungner publicaram pela Organização Mundial da Saúde seu relatório "Princípios e prática de triagem para a doença", que traz uma descrição de princípios que sustentam as práticas de triagem além de descrever os "Critérios de Wilson e Jungner" para inclusão de doenças em programas de rastreamento, que continuam sendo altamente relevantes para orientar a tomada de decisão em todo o mundo. No cenário brasileiro, o Ministério da Saúde endossa estes critérios através do Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Rastreamento Neonatal,(40) bem como do Caderno de Atenção Básica: Rastreamento,(41) publicações oficiais do órgão. A inclusão das doenças apresentadas na triagem neonatal é principalmente motivada por: a gravidade clínica das doenças após o estágio latente; a existência de um consenso terapêutico, na melhor das hipóteses de natureza curativa; um prognóstico geral benéfico se diagnosticado e tratado precocemente; e o perfil de custo-efetividade da abordagem de triagem considerando a incidência e os custos de acompanhamento dos pacientes com diagnóstico tardio.(35) A Tabela 4 traz uma adaptação do modelo estendido de Wilson-Junger sobre XLA e SCID, demonstrando que ambas as doenças apresentam

características que as habilitam para rastreamento neonatal, atendendo aos critérios universalmente aceitos.(39)

Tabela 4. Avaliação de agamaglobulinemias e imunodeficiência combinada grave adaptado do modelo estendido de Wilson-Jungner.(35)

Critérios para a triagem neonatal		Agamaglobulinemias (por exemplo, XLA)		Imunodeficiência Grave Combinada (SCID)	
		Evidência Científica Disponível	Incerto ou Inconclusivo	Evidência Científica Disponível	Incerto ou Inconclusivo
1	Importante problema de saúde pública	X		X	
2	Tratamento disponível	X		X	
3	Existência de locais para confirmação do diagnóstico e realização do tratamento	X		X	
4	Período de latência detectável (ou estágio sintomático precoce)	X		X	
5	Forma de teste adequada e disponível	X		X	
6	Teste aceitável para a população*		X		X
7	Doença definida, história natural da doença conhecida	x		X	
8	Política acordada sobre quais pacientes tratar	X		X	
9	O custo da descoberta de casos é economicamente equilibrado	X		X	
10	A busca de casos é um processo contínuo – e não um projeto específico	X		X	
11	Evidências científicas sobre a eficácia da triagem	X		X	
12	Testes podem ser feitos com sistemas existentes	X		X	
13	Redução da odisseia diagnóstica	X		X	
14	Raro resultado adverso em falso-positivos	X		X	
15	Custo do tratamento coberto	X		X	
16	Teste pode ser declinado	X		X	
17	A informação de pré-teste está disponível	X		X	
18	Triagem no período neonatal é crítica	X		X	
19	Infraestrutura de saúde pública existente	X		X	
20	Aconselhamento genético é possível	X		X	
21	Riscos de tratamento explicáveis	X		X	
22	Limitações do rastreio explicáveis	X		X	

*Nos Estados Unidos, o teste é adotado de forma universal, com aceitação de toda a população.

Embora as taxas de incidência não façam diretamente parte do quadro do modelo estendido de Wilson-Jungner, é possível comparar as características das doenças de interesse (SCID e XLA) com outros testes de rastreamento disponíveis em programas já estabelecidos e incorporados no âmbito do Sistema de Saúde Suplementar no Brasil. A SCID e a XLA

apresentam, atualmente, estimativas de frequência semelhantes à de algumas aminoacidopatias, por exemplo, que são rastreados em inúmeros programas de triagem neonatal no mundo, incluindo o Sistema Único de Saúde e o Sistema de Saúde Suplementar no país. Na Tabela 5 estão descritas as incidências de algumas doenças cuja cobertura é obrigatória de acordo com o Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde da ANS versão 2018(42) para rastreamento neonatal.

Tabela 5. Incidência de doenças com cobertura obrigatória para rastreamento neonatal.

Doença	Rastreio	Prevalência	Referência
Fenilcetonúria Clássica (PKU)	Fenilalanina (PKU)	EUA 1:13.500-1:19.000 (população afro-americana 1:50.000)	(43)
		Finlândia 1:200.000	(44)
		Japão 1:143.000 Brasil 1:15.839	
Aminoacidopatias	Análise quantitativa (cromatografia de aminoácidos)	1:17.000 - 1:2.000.000*	(45)
Hemoglobinopatia	HbS, HbC, HbE, HbD, HbAS, E, Hb Hasharon e talassemias	Traços 1,5:100 Doença SS 1:3.721 Doença SC 1:7.386	(46)
Deficiência de Biotinidase	Atividade da Biotinidase	Geral 1: 61.067 (IC95% 1:49.500-1:79.544) Brasil 1:62.500	(47)
Fibrose cística	Tripsina Imuno Reativa (IRT), hipertripsinemia	Geral 1:3.000 Brasil 1:7.000	(48)
Hiperplasia adrenal congênita ou Síndrome adeno-genital	17-alfa-hidroxiprogesterona	Geral 1:280 a 1:42.000 Brasil 1:7.500 a 1:10.000	(49)
Hipotireoidismo congênito	TSH e T4	Brasil 1:2.595-1:4.795 Brasil hipotireoidismo congênito central 1:25.000-1:100.000	(50)
Galactosemias	Galactose Total Neonatal	Geral 1:60.000 Europa 1:30.000-1:40.000 Japão 1:1.000.000 Estados Unidos 1:53.000	(51)
		Brasil 1:19.984 (IC95% 1:7.494-1:59.953)	(52)
Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD)	glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD)	1:100.000	(53)

*Algumas das hemoglobinopatias são muito raras, sem dados de prevalência

Estimativas mais recentes, após a introdução do rastreamento de rotina em particular nos EUA, apontam que a SCID tem incidência estimada de 1:58.000, número que se alinha, por exemplo, com a incidência geral da galactosemia (estando dentro do intervalo de confiança para a estimativa nacional) e da deficiência de biotinidase (dados nacionais), bem como da fenilcetonúria clássica em populações específicas (indivíduos afrodescendentes nos EUA), sendo praticamente metade da incidência observada para deficiência de G-6-PD – todas

doenças com rastreamento neonatal coberto pelas operadoras de planos de saúde no âmbito da saúde suplementar. A agamaglobulinemia, por sua vez, conta com estimativas de incidência bastante variáveis, sendo que as estimativas com maior frequência se alinham com a da deficiência de G-6-PD e as menos frequentes com a ocorrência de algumas aminoacidopatias mais raras.

4 EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS

4.1 Questão do Estudo

Para a revisão da literatura, a questão de pesquisa foi estruturada no formato PICO (Tabela 6).

Tabela 6. Questão estruturada no formato PICO.

P - População	Recém-nascidos submetidos a programas de rastreamento neonatal para condições congênitas
I - Teste índice	Rastreamento para imunodeficiência combinada grave (SCID) e agamaglobulinemia através do teste de quantificação TREC e KREC
C - Comparador	Ausência de rastreamento para as referidas doenças
O - Desfechos	Deteção de SCID e agamaglobulinemia
Desenho de Estudo	Revisões sistemáticas, metanálises e estudos de rastreamento

Pergunta: O rastreamento neonatal para SCID e agamaglobulinemia através dos testes TREC e KREC traz benefícios clínicos de curto, médio e longo prazos para a população elegível?

4.1.1. População

Recém-nascidos submetidos a programas de rastreamento neonatal para condições congênitas.

4.1.2. Comparação

Considerando a inexistência de outros métodos atualmente disponíveis para rastreamento de SCID e agamaglobulinemia na população de interesse no âmbito da saúde suplementar, a comparação será feita com a ausência de rastreamento neonatal para estas condições.

4.2 Estratégia de busca

4.2.1. Fontes de dados

Buscaram-se revisões sistemáticas de estudos de rastreamento e estudos de rastreamento individuais que avaliaram estratégias de rastreamento neonatal de SCID e agamaglobulinemia.

Uma busca complementar de estudos econômicos sobre a tecnologia de interesse foi também conduzida. As buscas eletrônicas foram realizadas até 08 de julho de 2018 em todas as bases obrigatórias (Registro Cochrane Central de Ensaios Controlado, *The Cochrane Library*, MEDLINE via Pubmed, LILACS e CRD - *Centre for Reviews and Dissemination*) (Anexo 1).

Buscas complementares foram conduzidas em *websites* de agências de Avaliação de Tecnologias em Saúde e instituições correlatas e suas bases de dados. Mecanismos de busca incluíram adicionalmente Google® e outras ferramentas online. Buscas eletrônicas foram complementadas por buscas manuais de referências bibliográficas e *abstracts* de publicações selecionadas.

4.2.2. Vocabulário controlado

Na construção de estratégias de buscas, descritores, palavras-chave e termos MeSH foram utilizados para cada base de dados especificamente (Tabela 7). Não foram utilizados limites de idioma ou temporais.

As estratégias de buscas encontram-se descritas na Tabela 8.

Tabela 7. Termos utilizados nas estratégias de busca.

	Linha da Patologia	Linha da Intervenção	Comparadores	Filtro para RS/ estudos de rastreamento	Filtro para Estudos Econômicos
PUBMED	("Severe Combined Immunodeficiency"[Mesh] OR "SCID"[Text Word] OR "Agammaglobulinemia"[Mesh] OR "Agammaglobulinemia"[Text Word] OR "Lymphopenia"[Mesh] OR "lymphopenia"[Text Word])	("TREC"[Text Word] OR "T-cell receptor excision circles"[Text Word] OR "T cell receptor excision circles"[Text Word] OR "KREC"[Text Word] OR "kappa-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "K-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "Neonatal Screening"[Mesh] OR "Newborn screening"[Text Word] OR "Neonatal screening"[Text Word])	Não aplicável	RS: (search*[tiab] OR review[pt] OR meta-analysis[pt] OR meta-analysis[tiab] OR meta-analysis[Mesh]) Diagnóstico: (sensitivity*[tiab] OR "sensitivity and specificity"[MeSH] OR diagnos*[tiab] OR "diagnosis"[MeSH:noexp] OR "diagnosis, differential"[MeSH:noexp] OR diagnosis[Subheading:noexp])	((Economics) OR ("costs and cost analysis") OR (Cost allocation) OR (Cost-benefit analysis) OR (Cost control) OR (Cost savings) OR (Cost of illness) OR (Cost sharing) OR ("deductibles and coinsurance") OR (Medical savings accounts) OR (Health care costs) OR (Direct service costs) OR (Drug costs) OR (Employer health costs) OR (Hospital costs) OR (Health expenditures) OR (Capital expenditures) OR (Value of life) OR (Exp economics, hospital) OR (Exp economics, medical) OR (Economics, nursing) OR (Economics, pharmaceutical) OR (Exp "fees and charges") OR (Exp budgets) OR ((low adj cost).mp.) OR ((high adj cost).mp.) OR ((health?care adj cost\$).mp.) OR ((fiscal or funding or financial or finance).tw.) OR ((cost adj estimate\$).mp.) OR ((cost adj variable).mp.) OR ((unit adj cost\$).mp.) OR ((economic\$ or pharmacoeconomic\$ or price\$ or pricing).tw.))
LILACS	"SCID" OR "Severe Combined Immunodeficiency" OR "SCID" OR "XLA" OR "Agammaglobulinemia" OR "lymphopenia"	TREC OR "T-cell receptor excision circles" OR "T cell receptor excision circles" OR "KREC" OR "kappa-deleting recombination excision circles" OR "K-deleting recombination excision circles"	Não aplicável	-	-
BIBLIOTECA COCHRANE	immunodeficiency	(TREC OR KREC)		-	-
CRD	immunodeficiency	(TREC OR KREC)		-	-

CRD: *Centre for Reviews and Dissemination*; LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde; RS: Revisão sistemática.

Tabela 8. Estratégias de busca.

PUBMED

ESTRATÉGIA 1 - BUSCA SENSIBILIZADA (Revisões Sistemáticas e Metanálises)

("Severe Combined Immunodeficiency"[Mesh] OR "SCID"[Text Word] OR "Agammaglobulinemia"[Mesh] OR "Agammaglobulinemia"[Text Word] OR "Lymphopenia"[Mesh] OR "lymphopenia"[Text Word]) AND ("TREC"[Text Word] OR "T-cell receptor excision circles"[Text Word] OR "T cell receptor excision circles"[Text Word] OR "KREC"[Text Word] OR "kappa-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "K-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "Neonatal Screening"[Mesh] OR "Newborn screening"[Text Word] OR "Neonatal screening"[Text Word]) AND (search*[tiab] OR review[pt] OR meta-analysis[pt] OR meta-analysis[tiab] OR meta-analysis[Mesh])

Resultados: 65 títulos

ESTRATÉGIA 4 - BUSCA SENSIBILIZADA (Estudos de rastreamento)

("Severe Combined Immunodeficiency"[Mesh] OR "SCID"[Text Word] OR "Agammaglobulinemia"[Mesh] OR "Agammaglobulinemia"[Text Word] OR "Lymphopenia"[Mesh] OR "lymphopenia"[Text Word]) AND ("TREC"[Text Word] OR "T-cell receptor excision circles"[Text Word] OR "T cell receptor excision circles"[Text Word] OR "KREC"[Text Word] OR "kappa-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "K-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "Neonatal Screening"[Mesh] OR "Newborn screening"[Text Word] OR "Neonatal screening"[Text Word]) AND (sensitivity*[tiab] OR "sensitivity and specificity"[MeSH] OR diagnos*[tiab] OR "diagnosis"[MeSH:noexp] OR "diagnosis, differential"[MeSH:noexp] OR diagnosis[Subheading:noexp])

Resultados: 208 títulos

ESTRATÉGIA 5 - BUSCA ECONÔMICA

("Severe Combined Immunodeficiency"[Mesh] OR "SCID"[Text Word] OR "Agammaglobulinemia"[Mesh] OR "Agammaglobulinemia"[Text Word] OR "Lymphopenia"[Mesh] OR "lymphopenia"[Text Word]) AND ("TREC"[Text Word] OR "T-cell receptor excision circles"[Text Word] OR "T cell receptor excision circles"[Text Word] OR "KREC"[Text Word] OR "kappa-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "K-deleting recombination excision circles"[Text Word] OR "Neonatal Screening"[Mesh] OR "Newborn screening"[Text Word] OR "Neonatal screening"[Text Word]) AND ((Economics) OR ("costs and cost analysis") OR (Cost allocation) OR (Cost-benefit analysis) OR (Cost control) OR (Cost savings) OR (Cost of illness) OR (Cost sharing) OR ("deductibles and coinsurance") OR (Medical savings accounts) OR (Health care costs) OR (Direct service costs) OR (Drug costs) OR (Employer health costs) OR (Hospital costs) OR (Health expenditures) OR (Capital expenditures) OR (Value of life) OR (Exp economics, hospital) OR (Exp economics, medical) OR (Economics, nursing) OR (Economics, pharmaceutical) OR (Exp "fees and charges") OR (Exp budgets) OR ((low adj cost).mp.) OR ((high adj cost).mp.) OR ((health?care adj cost\$).mp.) OR ((fiscal or funding or financial or finance).tw.) OR ((cost adj estimate\$).mp.) OR ((cost adj variable).mp.) OR ((unit adj cost\$).mp.) OR ((economic\$ or pharmacoeconomic\$ or price\$ or pricing).tw.))

Resultados: 24 títulos

LILACS

ESTRATÉGIA 1 - BUSCA SIMPLES

("SCID" OR "Severe Combined Immunodeficiency" OR "SCID" OR "XLA" OR "Agammaglobulinemia" OR "lymphopenia") AND ("SCID" OR "Severe Combined Immunodeficiency" OR "SCID" OR "XLA" OR "Agammaglobulinemia" OR "lymphopenia")

Resultado: 0 títulos

CRD

ESTRATÉGIA 1 - BUSCA SIMPLES

(immunodeficiency) AND (TREC OR KREC)

Resultados: 0 títulos

ESTRATÉGIA 1 - BUSCA SIMPLES

immunodeficiency AND (TREC OR KREC)

Resultados: 0 títulos (revisões completas)

CRD: *Centre for Reviews and Dissemination*; LILACS: *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde*.

4.4 Critérios de seleção e exclusão dos artigos

Foram incluídos estudos que atenderam às seguintes características:

- Revisões sistemáticas com ou sem metanálise de estudos de rastreamento bem como estudos de rastreamento individuais (séries de caso desde que $n > 4$ indivíduos e estudos de coorte);
- Envolvendo rastreamento neonatal para SCID e agamaglobulinemia através dos métodos TREC e KREC, a partir de amostras de sangue do chamado “teste do pezinho”.

Para os fins desta revisão, foram excluídos estudos que não atendessem os critérios acima descritos e ainda aqueles que se encaixem nos seguintes critérios de exclusão:

- Duplicatas, definidas como estudos individuais já incluídos em revisões sistemáticas incluídas nesta revisão OU mais de uma publicação sobre o mesmo estudo reportando os mesmos dados (ou conjunto de dados já contidos em publicações incluídas);
- Estudos utilizando outros métodos de rastreamento que não TREC e KREC.

4.5 Critérios de qualidade

Dois revisores realizaram a busca nas bases de dados utilizando a estratégia previamente definida e selecionaram os estudos para inclusão na revisão. Planejou-se, inicialmente, que, nos casos em que não houvesse consenso, um terceiro revisor seria consultado sobre a elegibilidade e ficaria responsável pela decisão final. De acordo com as Diretrizes Metodológicas para Elaboração de Pareceres Técnico-Científicos do Ministério da Saúde, os estudos incluídos na revisão foram analisados com base em critérios de qualidade e indicadores metodológicos estabelecidos por Guyatt e Rennie 2006 (54) e avaliados conforme a Classificação de Nível de Evidência *Oxford Centre for Evidence Based Medicine* (Anexo 2).

4.6 Resultados da busca realizada

4.6.1. Seleção dos artigos

Após a realização da busca nas bases de dados, 215 títulos não duplicados foram localizados. Aplicados os critérios de elegibilidade, dois revisores selecionaram 47 estudos para leitura na íntegra. Desses, 12 estudos foram selecionados e incluídos nesta revisão (Figura 3). Os resultados encontram-se descritos ao longo do texto. Os estudos incluídos na versão final desta revisão encontram-se demonstrados nas Tabela 9, Tabela 10 e Tabela 11, com suas principais características. Os estudos avaliados na íntegra e excluídos, assim como seus motivos para exclusão são apresentados no Anexo 4. Convém ressaltar que, após a seleção inicial de revisões sistemáticas com ou sem metanálise de estudos individuais de diagnóstico, os estudos já incluídos na revisão sistemática publicada por Van Der Spek *et al* 2015(55) foram considerados duplicatas e apenas os estudos elegíveis não contemplados na referida publicação foram adicionalmente incluídos.

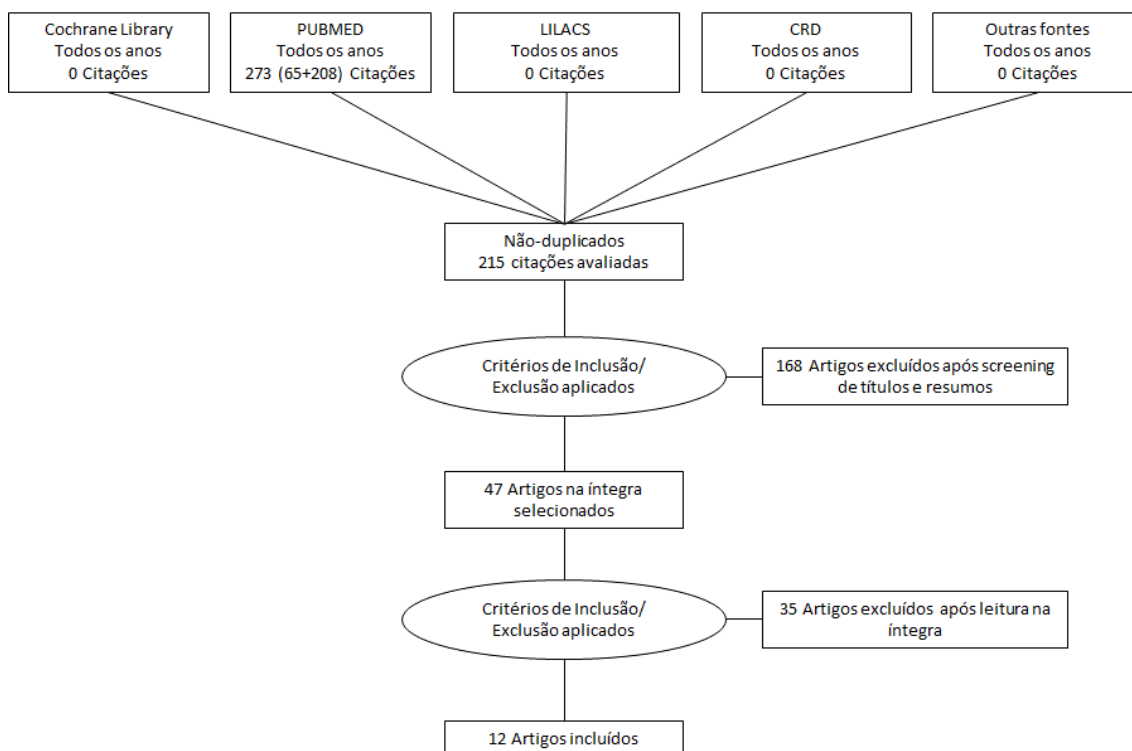


Figura 3. Fluxograma de seleção de estudos (eficácia e segurança).

4.6.2. Resumo das principais características e limitações dos estudos incluídos

Tabela 9. Estudos incluídos para análise - Revisão sistemáticas de estudos individuais.

Autor, data	Van der Spek <i>et al</i> 2015(55)
País	Diversos países
Desenho	Revisão sistemática sem metanálise de estudos de rastreamento (séries de caso e estudos de coorte)
População	RN submetidos a rastreamento neonatal e pacientes com diagnóstico conhecido de SCID ou outras linfopenias de células T, como controle
Intervenção e comparadores	Rastreamento neonatal com teste TREC obtido através de PCR-QTR
Desfechos	Incidência de SCID (número de casos), sensibilidade, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de referência para investigação/tratamento, VPP, ponto de corte para número de TRECs
Principais resultados	Os 13 estudos incluídos re-confirmaram 89 casos conhecidos de SCID e identificaram 53 novos casos em 3,15 milhões de RNs. Nas séries de caso, a sensibilidade foi de 100%. Nos estudos prospectivos de coorte, a incidência de SCID foi de 1,7 casos a cada 100.000 RNs, a taxa de reteste foi de 0,20-3,26%, a taxa de repetição da coleta foi de 0,0%-0,41% e a taxa de referência para cuidado foi de 0,01-1,35%. O VPP foi de 0,8-11,2% para SCID e 18,3-81,0% em outras linfopenias, nas 5 maiores coortes. O conteúdo individual de TREC em todos os pacientes de SCID foi <25 TRECs/ μ l.
Limitações	A ausência de dados completos sobre os seguimentos dos casos identificados de SCID não permitiu a determinação completa da classificação de SCID, conforme as definições atuais. A maioria dos dados foram obtidos de amostras no EUA, podendo comprometer a validade externa (outras populações com risco basal diferente). Nem todos os estudos incluídos apresentavam dados completos para determinação de todos os desfechos.
Nível de evidência	Nível 1 (Oxford Centre for Evidence-Based Medicine 2011 Levels of Evidence para Estudo Diagnóstico)

SCID: imunodeficiência combinada grave; PCR-QTR: PCR quantitativo em tempo real; TREC: *T-cell receptor excision circles*; RN: recém-nascido; VPP: valor preditivo positivo; EUA: Estados Unidos da América.

Tabela 10. Estudos incluídos para análise – Estudos de rastreamento ou observacionais individuais (estudos piloto).

Autor, data	Olbrich <i>et al</i> 2014	De Felipe <i>et al</i> 2016	Kanegae <i>et al</i> 2016	Barbaro <i>et al</i> 2017
País	Espanha	Espanha	Brasil	Holanda
Desenho	Estudo transversal	Estudo transversal	Estudo transversal	Estudo transversal
População	N=1.068 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=5.279 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=8.682 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=58.834 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B
Intervenção e comparadores	Quantificação de TRECs e KRECs	Quantificação de TRECs e KRECs	Quantificação de TRECs	Quantificação de TRECs e KRECs
Desfechos	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de positivo (taxa de encaminhamento)	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de positivo (taxa de encaminhamento)	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de positivo (taxa de encaminhamento)	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de positivo (taxa de encaminhamento), casos detectados (LCT)
Resultados	Reteste: 0,75% Repetição: 0,09% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,00% Casos detectados SCID e outras LCT: 0	Reteste: 1,50% Repetição: 0,19% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,10% Casos detectados SCID e outras LCT: 0	Reteste: 0,56% Repetição: 0,43% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,03% Casos detectados SCID e outras LCT: 0	Reteste: 0,90% Repetição: 0,16% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,16% Casos detectados SCID: 0 Casos detectados outras LCT: 3
Limitações	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial
Nível de evidência	Nível 2	Nível 2	Nível 2	Nível 2

SCID: imunodeficiência combinada grave; LCT: linfopenia de células T; KREC: *kappa-deleting recombination circles*; TREC: T-cell receptor excision circles; RN: recém-nascido.

Autor, data	Blom <i>et al</i> 2017	Kanegae <i>et al</i> 2017	Nourizadeh <i>et al</i> 2017	Richards <i>et al</i> 2017
País	Holanda	Brasil	Irã	Austrália
Desenho	Estudo transversal	Estudo transversal	Estudo transversal	Estudo transversal
População	N=1.295 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=6.881 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=1.980 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=501 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B
Intervenção e comparadores	Quantificação de TRECs	Quantificação de TRECs e KRECs	Quantificação de TRECs e KRECs	Quantificação de TRECs
Desfechos	Pontos de corte, taxa de reteste	Pontos de corte, taxa de positivo (taxa de encaminhamento)	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de positivo (não houve encaminhamento neste estudo)	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de repetição da coleta, taxa de positivo (taxa de encaminhamento)
Resultados	Reteste: 3,00% Encaminhamento para avaliações adicionais: não houve seguimento, porém 1,62% das amostras foram “positivas” Casos detectados SCID e outras LCT: 0	Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,02% Casos detectados SCID e outras LCT: 0	Reteste: 1,50% Encaminhamento para avaliações adicionais: não houve seguimento clínico, porém, 0,15% foram consideradas “positivas”	Reteste: 4,60% Repetição: 0,80% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,00% Casos detectados SCID e outras LCT: 0
Limitações	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial
Nível de evidência	Nível 2	Nível 2	Nível 2	Nível 2

SCID: imunodeficiência combinada grave; LCT: linfopenia de células T; KREC: *kappa-deleting recombination circles*; TREC: *T-cell receptor excision circles*; RN: recém-nascido.

Autor, data	Tagliaferri <i>et al</i> 2017
País	Alemanha
Desenho	Estudo transversal
População	N=6034 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B
Intervenção e comparadores	Quantificação de TRECs
Desfechos	Pontos de corte, taxa de reteste, taxa de positivo (encaminhamento)
Resultados	Reteste: 1,20% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,05%
Limitações	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial
Nível de evidência	Nível 2

TREC: *T-cell receptor excision circles*; RN: recém-nascido.

Tabela 11. Estudos incluídos para análise – Estudos de rastreamento ou Observacionais Individuais (Estudos de coorte de base populacional).

Autor, data	Kwan <i>et al</i> 2015	Rechavi <i>et al</i> 2017
País	EUA, Nação Navajo	Israel
Desenho	Coorte populacional (do tipo experiência de rastreamento)	Coorte populacional (do tipo experiência de rastreamento)
População	N=7.900 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B	N=177.277 RN submetidos a rastreamento neonatal para linfopenias T e/ou B
Intervenção e comparadores	Quantificação de TRECs	Quantificação de TRECs
Desfechos	Taxa de positivo (encaminhamento), casos detectados de SCID, casos detectados de outras LCT	Taxa de repetição da amostra, taxa de positivo (encaminhamento), casos detectados de SCID, casos detectados de outras LCT
Resultados	Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,06% Casos detectados de SCID: 4 Casos detectados de outras LCT: 1	Taxa de repetição da amostra: 0,3% Encaminhamento para avaliações adicionais: 0,02% Casos detectados de SCID: 8 Casos detectados de outras LCT: 27
Limitações	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial	Padrão de referência não foi aplicado a toda amostra, apenas testes confirmatórios nos indivíduos com alteração na quantificação inicial
Nível de evidência	Nível 2	Nível 2

EUA: Estados Unidos da América; SCID: imunodeficiência combinada grave; LCT: linfopenia de células T; TREC: *T-cell receptor excision circles*; RN: recém-nascido.

4.6.3. Avaliação crítica

De acordo com as Diretrizes Metodológicas para Elaboração de Pareceres Técnico-Científicos do Ministério da Saúde (56), os estudos incluídos na revisão foram analisados de acordo com cada questionário recomendado por tipo de estudo, permitindo a avaliação sistemática da “força” da evidência, principalmente na identificação de potenciais vieses e seus impactos na conclusão do estudo. As fichas de avaliação crítica encontram-se no Anexo 3 deste documento.

4.6.4. Análise da qualidade da evidência

A classificação da qualidade da evidência é feita por desfecho, conforme detalhado na Tabela 12.

Tabela 12. Classificação da qualidade da evidência.

Desfecho	Classificação
Sensibilidade	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Especificidade	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Valor preditivo positivo	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Frequência da doença	(X) Alta () Moderada () Baixa () Muito baixa
Taxa de reteste	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Taxa de encaminhamento	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Falso positivo	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa
Pontos de corte	() Alta (X) Moderada () Baixa () Muito baixa

4.6.5. Descrição dos estudos selecionados

Os artigos incluídos na revisão foram segmentados de acordo com o desenho do estudo em duas categorias: revisões sistemáticas e estudos individuais de diagnóstico (séries de caso ou coortes). Os resultados descritivos estão apresentados a seguir.

Revisões sistemáticas

Para este subgrupo de estudos, foi identificada uma revisão sistemática conduzida por Van der Spek *et al* 2017, conforme descrito a seguir.

Van der Spek et al 2017(55)

Os autores conduziram uma revisão sistemática para identificar evidências sobre a performance diagnóstica da mensuração de TRECs no rastreamento neonatal para SCID, subdividida em “SCID típica” (definida como células T CD3<300/ μ l ou enxerto materno) e “outras formas de linfopenia de células T (LCT)” (definida como células T CD3 \geq 300/ μ l), conforme os critérios diagnósticos propostos pelo Consórcio para o Tratamento das Imunodeficiências Primárias.

Foram incluídas 5 séries de caso de pacientes sabidamente portadores de SCID,(57–61) 5 estudos de coorte(62–66) e dois estudos descrevendo simultaneamente séries de caso e coortes.(21,67) Adicionalmente, após o processo formal de seleção, um estudo descrevendo 11 coortes nos EUA (referentes a estados que haviam introduzido o rastreamento neonatal para SCID nos anos anteriores) foi publicado e os autores optaram por incluí-lo também.(68) Os resultados dos estudos individuais incluídos na revisão foram organizados em 5 categorias iniciais: i) alta sensibilidade para SCID típica do rastreamento com uso de TRECs em séries de caso; ii) variações nas características técnicas dos testes de rastreamento e algoritmos utilizados em estudos de coorte; iii) valores de corte para TREC e desempenho diagnóstico em estudos piloto do tipo coorte; iv) desempenho diagnóstico do rastreamento neonatal com uso de TRECs em coortes de base populacional; v) casos detectados em coortes de base populacional.

- i) Alta sensibilidade para SCID típica no rastreamento neonatal com uso de TRECs em séries de casos:

Os testes com TRECs foram validados utilizando a contagem de TRECs em cartões de rastreamento neonatal arquivados de pacientes com SCID conhecida ou com outros diagnósticos potencialmente correlacionados a alterações de TREC. No total, 58 de 159 (36%) dos pacientes incluídos nas séries de caso tinham SCID típica. A sensibilidade do rastreamento baseado em TREC nestes casos foi de 100% para todos os tipos de SCID testadas (Tabela 13). Outros tipos de LCT como ADA-SCID de início tardio não puderam ser identificados através do

rastreamento com TRECs, porém, teriam sido identificados através do teste para KRECs, que detecta linfopenia de células B (assim como através de espectrometria de massa em tandem). Variações no gene de controle e nos pontos de corte não influenciaram na detecção correta de pacientes com SCID. As séries de caso de pacientes sabidamente portadores de SCID foram capazes, portanto, de confirmar a alta sensibilidade do teste.

ii) Variações nas características técnicas dos testes de rastreamento e algoritmos utilizados nos estudos de coorte

Em relação às diferenças técnicas na condução dos testes entre os estudos, notadamente, o ponto de corte para TRECs variou de 7 a 252 TRECs/ μ l e os cartões utilizados no Reino Unido possuem medidas de 1,5mm ao invés do padrão de 3,2mm adotado para os kits TREC neonatais dos demais estudos. O método de extração do DNA foi similar em todos os estudos com exceção do conduzido no estado de Nova Iorque. Para os algoritmos de rastreamento, as principais diferenças se deram em relação à repetição da coleta em neonatos prematuros ou internados em UTI, ao invés da referência imediata em caso de resultados anormais, e à adição de uma categoria limítrofe em diversos centros.

iii) Pontos de corte e desempenho diagnóstico em estudos piloto do tipo coorte

Dados foram coletados prospectivamente para aproximadamente 13.000 neonatos em estudos piloto(21,62,67) (Tabela 14, séries de caso), que demonstraram que reduzir o ponto de corte de 40 para 20 TRECs/ μ l levou a uma diminuição da taxa de reteste, de 3,76% para 0,20% no Reino Unido e de 2,63% para 1,17% na França, com redução consequente nas taxas de encaminhamento de 1,00% para 0,04% (Reino Unido) e 0,18% para 0,04% (França). Nos dois países, pontos de corte mais baixo foram recomendados para programas futuros de rastreamento neonatal (Reino Unido: 20 TRECs/ μ l e França: 100 TRECs/reação). O primeiro estudo piloto combinando TRECs e KRECs foi conduzido na Suécia e indicou que 2 dos neonatos positivos presumidos (33%) seriam encaminhados com base em TRECs normais e KRECs anormais, resultando em uma taxa global de encaminhamento de 0,23%. A repetição da coleta variou de 0,00% a 0,04%. Convém salientar que, nos estudos piloto, os cartões de amostra eram anonimizados e, por isso, os recém-nascidos com um rastreamento positivo não eram de fato encaminhados e os resultados de potenciais exames confirmatórios permaneceram desconhecidos.

iv) Desempenho diagnóstico do rastreamento baseados em TRECs em coortes de base populacional

Doze coortes de base populacional sobre o rastreamento de SCID baseado em TRECs foram incluídas na revisão de Van de Spek *et al* 2015(55), detectando um total de 53 SCID típicas e 494 casos de outras LCT em aproximadamente 3,15 milhões de recém-nascidos rastreados (Tabela 14).(63,65,66,68,69) A incidência de SCID típica foi de aproximadamente 1,7 a cada 100.000 neonatos rastreados. Uma incidência mais alta foi reportada nas coortes de Connecticut, Delaware e Nação Navajo (nos EUA).

O desempenho diagnóstico variou de forma considerável entre os estudos: a taxa de reteste variou de 0% (em Taiwan) a 0,36% (no estado de Nova Iorque); a taxa de necessidade de nova coleta variou de 0,08% na Califórnia até 0,41% em Taiwan; enquanto que a taxa de encaminhamento para avaliações adicionais foi de 0,01% na Califórnia, Colorado e Mississippi e de 1,35% no Texas. Parte desta variação pode ser explicada pelo fato de que o algoritmo utilizado no Texas e em Taiwan não incluíam a possibilidade de retestar a amostra original. Em comparação aos estudos pilotos, as coortes tiveram uma taxa de repetição da coleta maior, porém com menor taxa de encaminhamento.

Considerando apenas as 5 maiores coortes, o valor preditivo positivo (VPP) do algoritmo para SCID típica variou de 0,8% (IC 95% -0,03% a 1,9%, no Texas) até 11,2% (IC 95% 6,9% a 15,5%, na Califórnia) e para outras LCT de 18,3% (IC 95% 15,0% a 21,6%, no estado de Nova Iorque) até 81,0% (IC 95% 71,3% a 90,6%). A significativa variação pode ser explicada, provavelmente, pelas diferenças nos algoritmos para cada contexto, como por exemplo diferentes pontos de corte, previsão de repetir a coleta ou retestar a amostra em situações específicas, tratamento diferencial para subgrupos (prematturos e neonatos internados em unidade de terapia intensiva) etc.

v) Casos detectados em estudos de coorte de base populacional

Os diferentes tipos de SCID típica diagnosticados nos estudos de coorte estão apresentados na Tabela 15, bem como os casos de outras LCT e condições não diagnosticadas pelo método. Os tipos mais prevalentes foram: SCID IL2RG (n=10; 19% das SCIDs típicas), SCID IL7R (n=6; 11%), SCID de etiologia desconhecida (n=6; 11%), SCID ADA (n=5; 9%), SCID RAG1 (n=5; 9%), SCID JAK3 (n=3; 6%). LCT não especificada (n=117), síndrome de DiGeorge (n=83) e anomalias cardíacas (n=30) foram as outras alterações mais comuns. Em conformidade com o observado para séries de caso, um caso de SCID ADA de início tardio não foi identificado pelo

rastreamento por TREC, sendo este o único caso de falta de diagnóstico pelo método em todas as coortes analisadas.

Os autores informam ainda que, no estudo de Taiwan,(69) somente uma parcela da população foi rastreada no período e que dois casos adicionais de SCID foram identificados posteriormente por manifestações clínicas no grupo não rastreado. Ambos os pacientes morreram e a análise retrospectiva das amostras de triagem neonatal de ambos revelou conteúdo de TREC indetectável, demonstrando que eles teriam se beneficiado do rastreamento neonatal, caso tivesse sido realizado.

A incidência de SCID, ainda que tenha sido aproximadamente duas vezes maior do que a observada em séries anteriores, foi similar entre os centros de rastreamento, com exceção da Nação Navajo e estados com coortes de pequeno tamanho.

Síntese dos resultados

Tanto as populações das coortes quanto dos estudos piloto demonstraram o impacto do ponto de corte para TRECs no desempenho diagnóstico dos algoritmos de rastreamento de SCID. Para estabelecer em que medida o conteúdo absoluto de TRECs também difere entre os estudos, os autores coletaram ainda os valores médios normais de TREC reportados. No Reino Unido, o valor médio de TRECs na população normal foi de 119 TRECs/ μ l (mediana 101, variação 0-1.160); em Taiwan foi de 283 TRECs/ μ l (mediana 202); para os estados de Wisconsin, Massachusetts e Nova Iorque, as médias foram de 225 TRECs/ μ l (mediana 186, variação <20 – 5.184), 190 TRECs/ μ l e 1.832 TRECs/ μ l. Os autores afirmam, portanto, que a ampla variação nos pontos de corte é acompanhada, também, por uma ampla variação nos valores médios observados.

Em relação aos valores de TREC observados para os indivíduos com SCID ou outras LCT, a Figura 4 mostra os conteúdos de TREC plotados em relação aos diagnósticos correspondentes. Os valores dos pacientes com SCID típica foram consistentemente menores do que aqueles dos pacientes com outras LCT. Dos 80 pacientes de SCID típica, 37 (46%) tiveram conteúdos indetectáveis, comparados a 18 de 1.872 (11%) no grupo de outras LCT. Os autores exploraram ainda a relação entre os pontos de corte e o percentual de SCID típica e outras LCT identificadas pelo rastreamento de TRECs. Nesta análise, a adoção de um ponto de corte de 25 TRECs/ μ l permitiria que, além dos casos de SCID, cerca de metade dos casos de outras LCT fossem também identificados.

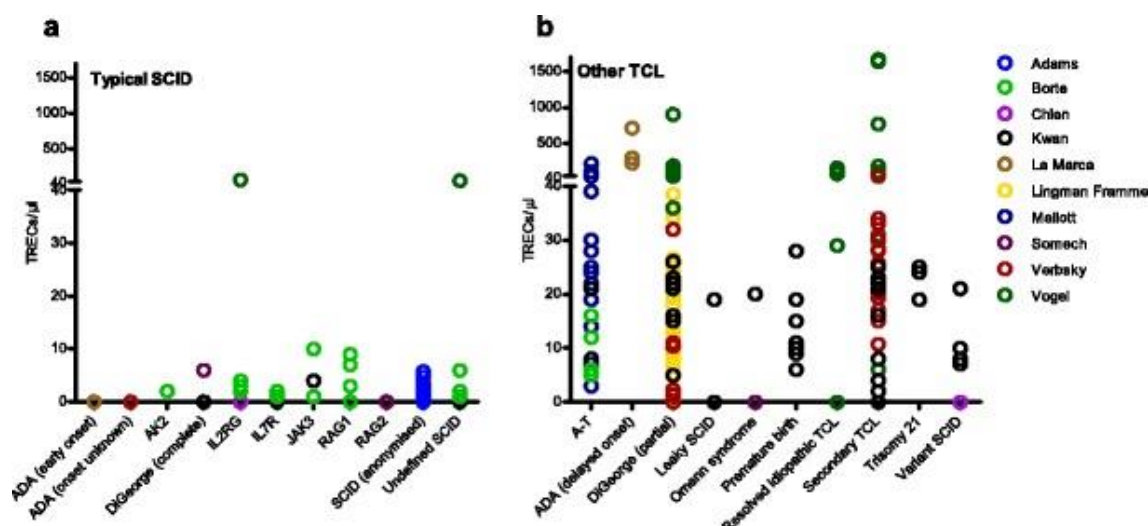


Figura 4. Conteúdo de TREC neonatal de pacientes com SCID típica (a) e outras LCT (b) em diferentes centros (cores).

Recomendações para a implementação de algoritmos de rastreamento neonatal baseado em TRECs segundo Van Der Spek *et al* 2015

- Definição do ponto de corte para TRECs: os valores de TRECs para todos os casos diagnosticados de SCID tanto em coortes quanto séries de caso foram <25 TRECs/μl, com exceção de dois casos identificados no estado de Nova Iorque. Dos 74 casos de SCID típica identificados, apenas estes dois do estado de Nova Iorque não teriam sido identificados pela adoção de um ponto de corte de 20 TRECs/μl (2,7% no total). O percentual de perdas diagnósticas seria de 4,1% com um ponto de corte de <10 TRECs/μl. Uma redução no ponto de corte poderia levar a um número menor de encaminhamentos, sem reduzir de forma significativa a sensibilidade do rastreamento. Do mesmo modo, um ponto de corte menor continuaria sendo adequado para identificar SCID típica, reduzindo, no entanto, a probabilidade de identificação de outras LCT. Sendo assim, a ponderação entre o tipo de caso que se deseja detectar deve ser levada em consideração na adoção de pontos de corte específicos no algoritmo de rastreamento.
- Adição de KRECs ao rastreamento baseado em TRECs: a adição do teste de KRECs no painel de rastreamento permitiria a detecção e tratamento precoce de SCID do tipo ADA de início tardio e imunodeficiências primárias com linfopenia de células B (como por exemplo agamaglobulinemia ligada ao X). Os autores propõem que estudos futuros poderiam identificar se o aumento do número de encaminhamentos em razão da ampliação do rastreamento seria acompanhado por uma redução de complicações

de longo prazo associadas a essas doenças, como por exemplo a redução do risco de doença pulmonar crônica na agamaglobulinemia nos casos diagnosticados precocemente.

- Abordagem para subgrupos específicos: o VPP mais alto para SCID, mas não para LCT, foi obtido pelo programa de rastreamento da Califórnia, que incorporou uma segunda coleta para pacientes em UTI neonatal com um primeiro resultado anormal, em acordo com evidências prévias que demonstravam TRECs médios mais baixos neste subgrupo de pacientes, bem como maior frequência de falsos positivos.(63,65,67,70,71) Diversas estratégias de rastreamento incluíram um ponto de corte diferente para recém-nascidos prematuros ou adicionaram um teste TREC extra quando completadas as 37 semanas corrigidas, antes de encaminhar para investigações adicionais e acompanhamento. Os autores recomendam, assim, que um rastreamento extra para neonatos prematuros ou em UTI neonatal seja realizado como parte do algoritmo.

Nota de esclarecimento: No Brasil, o ponto de corte já foi determinado nos estudos de Kanegae *et al*, o que permite a implementação do rastreamento em larga escala.(3)

Tabela 13. Características dos estudos de série de casos de pacientes sabidamente portadores incluídos em Van Der Spek *et al* 2015.⁽⁵⁵⁾

Autor (ano)	Referência	Localidade	Parâmetro	Ponto de corte	Nº rastreado	Diagnósticos detectados	Diagnósticos não-detectados
Morinishi <i>et al</i> 2009	(59)	Japão	TREC	NR	15	ADA-SCID (2), IL2RG-SCID (10), JAK3-SCID (2), LIG4-SCID (1)	-
Borte <i>et al</i> 2012	(21)	Suécia	TREC + KREC	15 TRECs/μl	49	AK2-SCID (1), A-T (4), ILWRG-SCID (4), IL7RA- SCID (5), SCID indefinida (3), XLA (4)	-
La Marca <i>et al</i> 2013	(57)	Itália	TREC	10 TRECs/μl	8	ADA-SCID de início precoce (3)	ADA-SCID de início tardio (3) ^a , portadores saudáveis de ADA
Mallot <i>et al</i> 2013	(58)	EUA (Califórnia)	TREC	25 TRECs/μl	13	A-T (7)	A-T (6)
Somech <i>et al</i> 2013	(60)	Israel	TREC + KREC	30 TRECs/3mm 8 KRECs/3mm	8	DiGeorge completa (1), DCLRE1C-SCID (1), Ommenn-SCID (2), RAG2-SCID (2), SCID indefinida (1), XLA (4) ^b	-
Adams <i>et al</i> 2014	(67)	Reino Unido	TREC	40 TRECs/μl	18	ADA-SCID (4), IL2RG-SCID (2), Ommen-SCID (2), PNP-SCID (1), RAG-SCID (2), SCID indefinida (7)	-
Lingman <i>et al</i> 2014	(72)	Suécia	TREC + KREC	8 TRECs/μl 6 kRECs/μl	48 ^c	Síndrome da deleção de 22q11 (8), DiGeorge completa (1)	Síndrome de deleção de 22q11 (39)

NR: não reportado; ^a pacientes teriam sido detectados por espectrometria de massa em tandem; ^b TRECs normais, KRECs anormais; ^c KRECs eram normais em todos os pacientes.

Tabela 14. Características e resultados dos algoritmos utilizados para screening neonatal de SCID em estudos piloto e coortes de base populacional. Van der Spek *et al* 2015.(55)

Autor (ano)	Ref	Local	Parâmetro	Ponto de corte	N	N° reteste	N° repetições da coleta	N° referência	N° SCID	N° outras LCT	VPP (SCID) [% (IC95%)]	VPP LCT [% (IC95%)]	SCID/ 100.000	LCT/ 100.000
Estudos piloto														
Borte 2012	(21)	Suécia	TREC+KREC	15TRECS/μl 10KRECS/μl	2.560	22 (0,86%)	1 (0,04%)	6 (0,23%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Adams 2014	(67)	UK	TREC	40TRECS/μl	5.081	191 (3,76%)	1 (0,02%)	51 (1,00%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
				20TRECS/μl	5.081	20 (0,20%)	1 (0,02%)	2 (0,04%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Audrain 2014	(62)	França	TREC	183TRECs/ reação ^a	5.028	132 (2,63%)	2 (0,04%)	9 (0,18%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
				100 TRECs/ reação ^a	5.028	59 (1,17%)	0 (0,00%)	2 (0,04%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Coortes de base populacional														
Chien 2012	(69)	Taiwan	TREC	40TRECS/μl	106.391	0 (0,00%)	432 (0,41%)	24 (0,02%)	2	16	8,3 (-2,7-19,4)	75,0 (57,7-92,3)	1,9	16,9
Verbsky 2012	(63)	EUA, Wisconsin	TREC	25/40 TRECS/μl ^b	207.696	449 (0,22%)	292 (0,14%)	72 (0,03%)	2	31	2,8 (-1,0-6,6)	45,8 (34,3-57,3)	1,0	15,9
Kwan 2014	(68)	EUA, Wisconsin	TREC	25/40 TRECS/μl ^b	340.037	NR	NR	108 (0,03%)	4 ^c	45	3,7 (1,0-7,3)	45,4 (36,0-54,8)	1,2	14,4
Kwan 2013	(66, 68)	EUA, Califórnia	TREC	25TRECS/μl	993.724	>897 (>0,09%)	806 (0,08%)	161 (0,02%)	12	38	7,5 (3,4-11,5)	31,1 (23,9-38,2)	1,2	5,0
Kwan 2014	(68)	EUA, Califórnia	TREC	25TRECS/μl	1.384.606	NR	NR	206 (0,01%)	23	57	11,2 (6,9-15,5)	38,8 (32,2-45,5)	1,7	5,8
Vogel 2014/	(65,	EUA, estado	TREC	125TRECS/	485.912*	1745*	1307	531 ^e	9	88	1,7 (0,6-2,8)	18,3 (15,0-21,6)	1,9	20,0
Kwan 2014	(68)	Nova Iorque		μl ^d		(0,36%)	(0,27%)	(0,11%)						
Kwan 2014	(68)	EUA, Colorado	TREC	40TRECS/μl	70.989	NR	NR	10 (0,01%)	1	3	10,0 (-8,6-28,6)	40,0 (9,6-70,4)	1,4	5,6
Kwan 2014	(68)	EUA, Connecticut	TREC	30TRECS/μl	57.136	NR	NR	22 (0,04%)	3	6	13,6 (-0,7-28,0)	40,9 (20,4-61,5)	5,3	15,8
Kwan 2014	(68)	EUA, Delaware	TREC	16 TRECS/μl ^f	11.202	NR	NR	9 (0,08%)	1	3	11,1 (-9,4-31,6)	44,4 (12,0-76,9)	8,9	35,7
Kwan 2014	(68)	EUA, Massachussets	TREC	252 TRECS/μl	293.371	NR	NR	63 (0,02%)	4	47	6,3 (0,3-12,4)	81,0 (71,3-90,6)	1,4	17,4
Kwan 2014	(68)	EUA, Michigan	TREC	7TRECS/μl	162.528	NR	NR	114 (0,07%)	2	76	1,8 (-0,7-4,2)	68,4 (59,9-77,0)	1,2	48,0
Kwan 2014	(68)	EUA, Mississippi	TREC	25TRECS/μl	37.613	NR	NR	5 (0,01%)	1	4	20,0 (-15,1-55,1)	100	2,7	13,3
Kwan 2014	(68)	EUA, Navajo	TREC	25TRECS/μl	3.498	NR	NR	1 (0,03%)	1	0	100	100	28,6	28,6
Kwan 2014	(68)	EUA, Texas	TREC	150 TRECS/μl	183.191	NR	NR	249 (1,35%)	2	80	0,8 (-0,3-1,9)	32,9 (27,1-38,8)	1,1	44,8

*resultados de rastreamento para o período 2010-2012; NA: não aplicável; NR: não reportado; ^a categoria limítrofe 39-183; ^b ponto de corte foi modificado para 40 após 19 meses de rastreamento, para os 17 meses seguintes; ^c casos de SCID reportados por Kwan 2014 para os 11 estados avaliados incluíram: 42 SCID típica, 9 SCID leaky e 1 síndrome de Omenn; ^d categoria limítrofe (125-200); ^e 531 pacientes encaminhados para avaliação adicional, em 478 a avaliação foi completa; ^f categoria limítrofe 17-26.

Tabela 15. Casos detectados e não-detectados através do rastreamento neonatal para SCID nas coortes de base populacional analisadas por Van Der Spek *et al* 2015.(55)

Autor (ano)	Referência	Casos de SCID típica detectados (n)	Outras LCTs detectadas pelo rastreamento (n)	Casos não detectados pelo rastreamento (n)
Chien <i>et al</i> (2012)	(69)	IL2RG (1), RAG1 (1)	Síndrome da deleção de 22q11,2 (5), outras condições médicas (9), SCID variante (2)	Não reportado
Kwan <i>et al</i> (2014)	(68)	IL2RG (9), IL7RA (6), ADA (5), RAG1 (4), JAK3 (3), DCLRE1C (1), RAG2 (1), CD3D (1), TC7A (1), síndrome de Pallister-Killian com tetrassomia de 12p (1), indefinida (10 ^a)	Leaky RAG1 (4 ^b), leaky RMRP (2), Leaky IL2RG (1), leaky DCLER1 (1), leaky indefinida (2), DiGeorge (78 ^c), trissomia do 21 (21), AT (4), trissomia do 18 (4), outras síndromes com comprometimento de células T (29), anomalias cardíacas (30), múltiplas anomalias congênitas (23), outros comprometimentos de células T secundários (64), parto prematuro isolado (29), SCID variante (12), LCT não especificada (117)	^d SCID ADA de início tardio (1), deficiência de MHC II (2), síndrome de Wiskott-Aldrich (2)

^a Testagem genética não finalizada em 4, para 6 casos não foram encontradas mutações para os genes conhecidos associados a SCID.

Estudos individuais de diagnóstico (coortes e séries de caso)

Foram considerados elegíveis para este subgrupo de estudos aqueles que não houvessem sido incluídos e abordados em Van Der Spek *et al* 2015 e que atendessem aos demais critérios de elegibilidade.(55) Deste modo, 13 estudos individuais(3,10,39,73–82) foram incluídos e seus resultados estão apresentados abaixo, segmentados de acordo com a classificação adotada por Van Der Spek *et al* 2015(55) (séries de casos, estudos piloto e coortes populacionais), quando aplicável. Para sistematizar os resultados, ao final da descrição dos métodos e principais resultados de cada estudo individual, serão compilados os dados de todos os estudos incluídos em tabelas similares às aquelas apresentadas por Van Der Spek *et al* 2015 (conforme Tabela 13 para séries de casos e Tabela 14 para coorte). Quando possível, de acordo com a disponibilidade de dados na publicação, foram calculados e informados nas respectivas tabelas os valores preditivos positivos para SCID e LCTs.

i) Séries de Caso

Nenhum dos estudos incluídos na revisão foi apenas uma série de casos. As análises de pacientes sabidamente portadores de IDPs foram incluídas como séries de caso aninhadas a estudos maiores (coortes piloto ou coortes de base populacional) e estão apresentadas na Tabela 19. Tais análises objetivaram demonstrar o desempenho diagnóstico da quantificação de TREC e KREC via qRT-PCR, pela identificação adequada de casos já diagnosticados como sendo de SCID, agamaglobulinemia ou outra LCT.

ii) Estudos Piloto

Olbrich et al 2014(80)

Trata-se do primeiro estudo piloto sobre rastreamento neonatal de SCID na Espanha, desenhado com o objetivo de quantificar prospectivamente os níveis de TRECs e KRECs a partir das amostras de sangue seco em cartões, para diagnosticar linfopenias de células T ou B. Foram avaliados todos os nascidos entre fevereiro e maio de 2014 em dois hospitais universitários, utilizando os pontos de corte de TRECs <15 cópias/ μ l e KRECs <10 cópias/ μ l (além do controle com beta actina para determinar se a extração de DNA foi adequada), estimando uma

sensibilidade de 98% de identificação de linfopenias T ou B. Foram incluídos controles internos (XLA, n=2, e ataxia, n=2) e externos (SCID, n=1). O algoritmo testado incluiu os seguintes passos:

- Em caso de um primeiro resultado inconclusivo ou patológico, se realiza reteste (nova PCR a partir do mesmo papel secante);
- Permanecendo o resultado inconclusivo ou patológico, se realiza nova coleta e envio de material;
- Se há, então, confirmação do resultado na nova amostra, os responsáveis legais são convocados para levar o recém-nascido em consulta especializada;
- Se idade gestacional ao nascimento menor do que 37 semanas, repetir a coleta e o teste com 37 semanas corrigidas antes de confirmar a alteração.

Foram considerados normais, patológicos ou inconclusivos os resultados apresentando valores de acordo com a Tabela 16. Além destes, foram testados ainda pontos de corte alternativos (TREC_s <8 cópias/μl, KREC_s <4 cópias/μl e gene beta-actina [ACTB] > 1000/μl).

Tabela 16. Interpretação dos resultados dos testes em Olbrich *et al* 2014.(80)

	Normal	Patológico			Duvidoso		
TREC, cópias/μl	≥15	<15	≥15	<15	<15	≥15	<15
KREC, cópias/μl	≥10	<10	<10	≥10	<10	<10	≥10
ACTB, cópias/μl	≥1000	≥1000	≥1000	≥1000	<1000	<1000	<1000

Foram analisadas 1.068 amostras obtidas de 1.088 recém-nascidos, sendo que 20 amostras (1,87%) não puderam ser analisadas por conter volume de sangue insuficiente no papel secante. Com os pontos de corte adotados no estudo para TREC_s e KREC_s (15 e 10 cópias, respectivamente), 8 amostras apresentaram um resultado patológico, representando 0,75% do total de indivíduos analisados. Seguindo o algoritmo estabelecido, foram repetidas as amostras sobre o mesmo papel filtro, chegando em todas, menos uma, a um resultado normal. Somente um recém-nascido (0,09%) teve indicação de nova coleta e preparo de papel filtro, por apresentar resultados patológicos para KREC_s (2 cópias/μl) no reteste. No segundo papel filtro, o resultado foi normal para KREC_s (167 cópias/μl). Os outros pontos de corte planejados não foram factíveis, uma vez que não se encontrou amostras com resultados abaixo deles. Não houve diferença significativa para os subgrupos de acordo com idade gestacional e peso ao nascimento.

Todos os controles patológicos foram adequadamente identificados. Foram analisados no total 9 controles: uma amostra de um paciente recentemente diagnosticado com SCID (tipo T negativo, B positivo), 2 amostras de pacientes de 3 e 17 anos de idade previamente diagnosticados com XLA (KRECs = 0 cópias/ μ l) e 2 pacientes de 1 e 17 anos de idade diagnosticados com ataxia e linfopenia grave. Adicionalmente, foram incluídas 4 amostras enviadas pelo *Center for Disease Control*, nos EUA, das quais 2 foram classificadas como T negativo e B negativo (uma delas com baixas cópias de ACTB) e 2 mostraram resultados normais.

de Felipe et al(77)

Os autores analisaram, nesta publicação, a experiência de 3 hospitais em Sevilha, Espanha, com o primeiro ano de implementação de ensaios para quantificação de TRECs/KRECs/ACTB, descrevendo aspectos práticos e de viabilidade, mas também os diagnósticos dos casos de linfopenia de células T e B identificados. A determinação de TRECs e KRECs foi feita utilizando PCR quantitativa em tempo real triplex (para TRECs, KRECs e Beta-Actina) a partir de amostras de sangue sexo coletadas prospectivamente entre fevereiro de 2014 e fevereiro de 2015. Os pontos de corte foram TRECs < 6/punch, KRECs < 4/punch e ACTB>700/punch. Nos casos com resultados inconclusivos ou anormais, uma nova análise a partir do mesmo cartão de Guthrie foi processada (reteste). Apenas os resultados patológicos no reteste levaram a nova coleta do neonato (*recall*) e, em caso de confirmação do resultado anormal, foi indicada avaliação clínica do paciente. Controles com diagnóstico prévio (n=7) foram utilizados. Em caso de prematuridade, as punções foram repetidas a cada 2 semanas até atingir as 37 semanas corrigidas, peso \geq 2500 g ou normalidade do teste.(77)

Um total de 5.279 amostras de 5.160 neonatos foram analisadas. Dos 5.160 sujeitos, 109 tiveram baixa contagem de ACTB, 32 delas não puderam ser repetidas em razão de material insuficiente na amostra (0,6%). Análise de novo *punch* do mesmo cartão dos 77 restantes (1,5%) mostraram 10 resultados positivos que passaram por *recall* (0,19%); 5 tiveram resultados subsequentes normais e os outros 5 foram confirmados como casos positivos (0,1%).

O número de cópias de TRECs e KRECs foram significativamente mais baixas em neonatos prematuros comparados aos a termo ($p < 0,001$), bem como entre aqueles abaixo de 2500g de peso ($p < 0,001$). Uma correlação positiva entre idade gestacional e peso ao nascer foi

observada tanto para TRECs ($r = 0,117$, $p < 0,001$; $r = 0,118$, $p < 0,001$) assim como para KRECs ($r = 0,05$, $p = 0,001$; $r = 0,052$, $p = 0,001$). Para as duas variáveis, a associação foi mais pronunciada para TRECs do que para KRECs.

Como apresentado na Tabela 20, 5 de 5.160 neonatos testados tiveram resultados positivos ao exame. Paciente 1 era uma menina pré-termo diagnosticada com uma cromossomopatia complexa, porém a confirmação do resultado inicial positivo não foi possível pela evolução rápida para óbito do caso. Pacientes 2 e 3 eram prematuros extremos dependentes de hemocomponentes, que apresentaram baixas contagens de ACTB e TRECs. Paciente 3 tinha ainda número reduzido de KRECs. Os 3 pacientes tinham contagem de linfócitos abaixo do esperado para a idade, enquanto a distribuição de subgrupos de linfócitos era normal para pacientes 2 e 3. Uma segunda amostra do paciente 3 mostrou KRECs e ACTB com resultados normais, com TRECs ainda reduzidos. Os dois pacientes permaneciam em acompanhamento no momento da publicação. KRECs reduzidos foram detectados nos pacientes 4 e 5. Uma entrevista telefônica demonstrou que ambas as mães recebiam terapia imunossupressiva para Lupus Eritematoso Sistêmico e doença de Crohn, incluindo azatioprina durante a gestação. A família do paciente 4 recusou nova coleta e o paciente 5 apresentou níveis de KRECs ainda baixos com 1 mês de idade. Uma terceira amostra do paciente 5 coletada 4 semanas após interrupção da amamentação mostrou valores de KREC e linfócitos normais. Uma amostra simultânea coletada da mãe do paciente 5 mostrou linfopenia de células B e valores de TRECs e KRECs patológicos (0 e 1, respectivamente), enquanto recebia tratamento com azatioprina. Estes resultados reforçam a necessidade de uma história clínica completa como parte de um segundo teste após um primeiro positivo. A potencial associação entre terapia imunossupressiva e contagem de KRECs anormal com TRECs normais não havia sido ainda observada na literatura. Adicionalmente, o paciente 5 manteve as alterações enquanto durou a amamentação na vigência do uso de azatioprina, demonstrando o potencial efeito tóxico transitório da droga sobre KRECs.(77)

Os controles externos (amostras disponibilizadas pelo CDC nos EUA) foram identificados corretamente. Sete amostras de pacientes com IDP conhecida foram analisadas como controles. Quatro pacientes tinham SCID, sendo que todos eles tinham TRECs abaixo do ponto de corte (0-4 cópias). De forma parecida, KRECs eram anormais em 2 sujeitos com um fenótipo de SCID do tipo T-B. Dois pacientes com XLA foram incluídos e KRECs estavam ausentes, como esperados. Um paciente com AT tinha TRECs ausentes e KRECs no limite inferior. Todas as amostras tinham níveis adequados de ACTB.

Kanegae et al 2016(3)

Kanegae *et al* 2016 conduziram um estudo piloto para avaliar a viabilidade de aplicar a técnica de quantificação de TRECs por PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR) no rastreamento neonatal de SCID no Brasil, de forma rotineira e em grande escala. A concentração de TRECs foi analisada a partir do papel filtro utilizado usualmente para triagem neonatal (teste do pezinho) de crianças nascidas em 3 maternidades na cidade de São Paulo e na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (Apae-SP), bem como na Clínica de Medicina Preventiva do Pará (Climep). Foram usados controles, um positivo (sangue com baixos níveis de TRECs) e um sem alvo (sem amostra). Na fase inicial do estudo, foi adotado um ponto de corte de 30 TRECs/ μ L de sangue, conforme valor definido anteriormente por outros autores. Quando um resultado ficou abaixo deste valor, novo picote da amostra foi realizado para confirmar o achado, para quantificar TRECs e ACTB (controle da extração). Após este reteste, caso os valores continuassem abaixo de 30 TRECs/ μ L e ACTB acima de 8.000/ μ L, as amostras eram consideradas de fato anormais, sendo os pacientes encaminhados para avaliação e exames confirmatórios (hemograma e determinação do número de linfócitos T, B e NK). Em caso de ACTB abaixo de 8.000/ μ L, o resultado foi considerado inconclusivo e nova amostra foi coletada.

Um total de 8.715 neonatos tiveram suas amostras coletadas, sendo que, destes, 33 foram inadequadas por falha na coleta, resultando em 8.682 válidas para quantificação de TRECs. O resultado para a primeira amostra variou de 2 a 2.181 TRECs/ μ L, com média e mediana de 324 e 259 TRECs/ μ L, respectivamente. Conforme o algoritmo definido para o estudo, as amostras com TRECs <30 TRECs/ μ L foram reanalisadas. Assim, o reteste foi realizado em 49 (0,56%) amostras e apenas 4 (0,05%) tiveram resultados anormais – TRECs entre 16 e 29/ μ L. Uma destas quatro amostras era de um recém-nascido prematuro de 27 semanas (24 TRECs/ μ L), porém o protocolo não foi finalizado por não ter sido possível localizar o sujeito. Os demais 3 foram examinados e submetidos à avaliação do número de linfócitos, sendo normais em todos os casos.

Conforme o protocolo, utilizando o ponto de corte arbitrário de 30 TRECs/ μ L, a taxa de repetição foi de 0,56% e, após o reteste, apenas 4 mantiveram valores anormais, com uma taxa de encaminhamento para investigação adicional e seguimento de 0,05%. Após a análise da curva ROC para a amostra estudada, foi definido um novo valor de corte de 26 TRECs/ μ L,

resultando em repetição de 0,43% e encaminhamento de 0,03%. A área sob a curva foi de 1,00 com sensibilidade de 100% para detecção de SCID.

Blom et al 2017(76)

Os autores conduziram um estudo piloto para avaliar a integração do rastreamento para SCID no programa de rastreamento neonatal na Holanda. Cartões do teste do pezinho anonimizados (n=1295) obtidos a partir do programa oficial das regiões de Gelderland e Utrecht foram utilizados e o estudo não tinha como objetivo fazer seguimento clínico de potenciais casos identificados. Amostras de sangue seco foram coletadas entre 72 e 168 horas de vida e analisadas em até 5 dias após a coleta. O estudo buscou identificar também se amostras armazenadas por diferentes intervalos de tempo a 4°C produziram resultados diferentes.

Os níveis médios de TREC dos 1.295 cartões foi de 111,8 cópias/μl de sangue (mediana de TREC: 96 cópias/μl). Com o ponto de corte estabelecido em 40 cópias/μl de sangue, 39 amostras (3,0%) necessitaram um restes após a análise inicial. Após o reteste, 21 amostras (1,62%) permaneceram com contagem de TRECs abaixo do ponto de corte, com controle de ACTB acima do ponto de corte específico. Uma amostra apenas necessitou de nova coleta por falhar no controle de qualidade para ACTB.

O ponto de corte de TREC determinado a partir do percentil 2,5 dos dados analisados na amostra do estudo piloto foi de 39 cópias/μl. A Tabela 17 mostra o decréscimo no número total de encaminhamentos anuais quando diferentes pontos de corte de TREC foram empregados no Programa de Rastreamento Neonatal nos anos seguintes.

Tabela 17. Percentual de positivos após teste inicial, de positivos presumidos após o segundo teste e número total de encaminhamentos de acordo com o ponto de corte de TREC, 175.181 nascimentos 2014. Blom et al 2017.(76)

	40 cópias/μl	39 cópias/μl	35 cópias/μl	30 cópias/μl	25 cópias/μl	22 cópias/μl
% de positivos após teste inicial	3,0	2,5	1,54	0,77	0,39	0,15
% de positivos presumidos (taxa de encaminhamento)	1,62	1,31	0,69	0,54	0,23	0,08
Encaminhamentos anuais (n)	2.838	2.295	1.209	946	403	140

Entre os 22 casos conhecidos de SCID com diagnóstico genético confirmado (com linfopenia de células T e mutações de base conhecidas), todos tiveram níveis de TREC ausentes ou baixos e bastante inferiores ao ponto de corte (0-4 TRECs/ μ l). Além disso, uma série de 27 amostras de pacientes com IDPs sem diagnóstico genético definido foram testadas. Em 14 pacientes, o nível de TRECs foi abaixo de 7 cópias/ μ l, sendo que 12 deles tinham suspeita clínica forte de SCID e linfopenia T acentuada. Duas das 14 amostras com <7 TRECs/ μ l eram de adultos com imunodeficiência comum variável. Os demais tinham níveis de TREC acima de 25 cópias, nenhum deles com linfopenia. O número médio de TRECs/ μ l em pacientes com SCID confirmada foi de 0,34 (mediana de 0).

Kanegae et al 2017(10)

Os autores conduziram estudo com metodologia similar àquela descrita para Kanegae *et al* 2016, porém com a inclusão da quantificação de KRECs para diagnóstico de linfopenia de células B, além da expansão para 2 outros centros na cidade de São José dos Campos/SP e Porto Alegre/RS. Além dos recém-nascidos incluídos na amostra principal do estudo, 23 amostras de pacientes com suspeita clínica de IDP, porém sem diagnóstico confirmado, foram incluídas em análise secundária, além de controles positivos compreendendo 3 pacientes com SCID e 4 com agamaglobulinemia.(10)

Um ponto de corte inicial foi definido em 25 cópias/ μ L para KRECs e TRECs, baseando-se em estudos previamente publicados. Planejou-se a definição de um ponto de corte inerente à amostra a partir de análise de curvas ROC. Usando os pontos de corte iniciais, quando uma amostra apresentava valores alterados, a avaliação foi repetida desde a extração e amplificação, juntamente com o controle com ACTB. Após essa segunda análise, os casos em que TRECs e/ou KRECs permaneceram anormais com controle de ACTB adequado, houve encaminhamento dos indivíduos para avaliação adicional com imunologista.

No total, foram analisadas 6.881 amostras de neonatos, sendo que os valores de TRECs variaram de 1-1.006 cópias/ μ l (média de 160 e mediana de 139). Os valores de corte estabelecidos pela análise de curva ROC foram 15 TRECs/ μ L e 14 KRECs/ μ L, determinando uma sensibilidade para SCID e agamaglobulinemia de 100%. As amostras com valores abaixo dos pontos de corte foram reanalisadas, incluindo controle de ACTB. Somente duas amostras

permaneceram com valores anormais para TRECs e/ou KRECs e levaram ao encaminhamento dos pacientes para avaliações adicionais. O paciente 1 (1 TREC/ μ L e 211 KRECs/ μ L) evoluiu para o óbito no sexto dia de vida por complicações ocorridas ainda intraútero. O paciente 2 (157 TRECs/ μ L e 10 KRECs/ μ L) não retornou para coleta de exames adicionais.

Em relação aos controles positivos, 3 pacientes de SCID apresentaram valores de TRECs abaixo de 4/ μ L e um paciente com Síndrome de DiGeorge não possuía TRECs detectáveis na amostra. A quantificação de KRECs evidenciou valores entre 10 e 1.097 cópias/ μ L (média 130 e mediana 108). Quatro pacientes com agamaglobulinemia tiveram resultados abaixo de 4 KRECs/ μ L.

O estudo avaliou ainda o impacto da idade gestacional ao nascer (prematturos *versus* nascidos a termo) nos valores de TRECs e KRECs. Os números de TRECs foram significativamente menores nos pré-termo ($p < 0,05$, mediana 146 TRECs/ μ L, comparada a 156 TRECs/ μ L entre os a termo). Não houve associação estatisticamente significativa entre valores de KREC e idade gestacional.

Nourizadeh et al 2018(79)

Nourizadeh *et al* 2018 conduziram estudo para determinar os pontos de corte para TRECs e KRECs no Irã com o objetivo de diagnosticar linfopenias de células T e B. A extração de DNA foi realizada a partir de 2.160 cartões de Guthrie anonimizados recebidos dos dois maiores centros de referência no país entre 2014 e 2016. Para refinar a análise dos pontos de corte, 51 pacientes com diagnóstico definitivo de SCID ($n=31$), XLA ($n=9$) e imunodeficiência combinada ($n=17$), incluindo ataxia-telangiectasia, deficiência de fosfoglicomutase-3 humana e Janus kinase-3, bem como 47 controles saudáveis foram também analisados. Amostras de pacientes com síndrome hiper-IgM ligada ao X, síndrome de Wiskott-Aldrich e deficiência de DNA ligase 4 foram considerados controles positivos. qRT-PCR triplex foi empregado.

Entre os 2.160 recém-nascidos com amostras disponíveis, 168 (7,8%) tiveram baixas cópias do controle com ACTB e foram considerados inconclusivos e excluídos, pela impossibilidade de nova coleta. Trinta casos de 1.992 amostras com controle de beta-actina adequado tiveram baixas contagens de TREC e/ou KREC, tendo sido considerados anormais ou positivos. No entanto, apenas 21 delas (1% do total) foram retestadas em razão da indisponibilidade das demais amostras para nova análise. Um novo picote dos cartões de Guthrie foi realizado e analisado (11 com baixa contagem de TRECs, 9 com baixa contagem de KRECs e uma com

ambos anormais). Ao final, 3 amostras retestadas (0,15%) e 9 amostras não-repetidas (0,45%) foram consideradas como tendo resultados anormais.

A análise de curvas ROC foi utilizada para determinar os pontos de corte a partir dos dados dos pacientes conhecidos de SCID, XLA e imunodeficiência combinada e também das amostras de rastreamento neonatal dos cartões anonimizados. Esta análise indicou pontos de corte de 11 cópias/3,2mm de papel filtro para TRECs e 6 cópias/3,2mm de papel filtro para KRECs. Estes pontos de corte tiveram uma sensibilidade estimada em 100% para TRECs e 97% para KRECs, às custas da especificidade na detecção das doenças de interesse. Os valores mínimos, máximos e mediana para KRECs, TRECs e ACTB encontram-se descritos na Tabela 18.

Tabela 18. Mediana, mínimos e máximos para TRECs, KRECs e ACTB em Nourizadeh *et al* 2017.(79)

	Mediana (Q1,Q3) [cópias/3,2mm]	Mínimo [cópias/3,2mm]	Máximo [cópias/3,2mm]
ACTB	2.201 (1225, 3757)	710	15.448
TREC	60 (34, 98)	12	445
KREC	27 (16,46)	6	489

Os valores de TREC estiveram abaixo de 1 ou zero em todos os 31 pacientes de SCID e em dois casos de deficiência de PGM3 e JAK3. Foram observados ainda valores baixos ou zero de KRECS para pacientes com SCID autossômica recessiva (AR-SCID). No entanto, 3 pacientes de AR-SCID com IL-7R α e 2 pacientes com SCID ligada ao X (IL-2R γ) tiveram contagem de cópias de KRECs acima dos pontos de corte adotados no estudo. Ainda em relação à quantificação de KRECs, o paciente com deficiência de JAK3 tinha valores normais e o paciente com deficiência de PGM3 tinha valores próximos, porém abaixo do ponto de corte. Todos os pacientes com ataxia-telangiectasia tiveram reduções significativas tanto em TREC quanto em KREC. Nove pacientes com XLA foram identificados com baixa contagem de KRECs, com valores de TREC normais.

Richards *et al* 2018(82)

Richards *et al* 2018 conduziram um estudo prospectivo para avaliar a viabilidade da aplicação do teste para TRECs no rastreamento neonatal de SCID em Victoria, Melbourne, Australia. Inicialmente, amostras de 14 indivíduos com diagnóstico confirmado de SCID ou síndrome de DiGeorge completa foram analisadas retrospectivamente para quantificação de TRECs. A seguir, número de cópias de TREC/ μ L foram medidas para 501 cartões de Guthrie não

identificados coletados prospectivamente. Dos 14 casos confirmados, 11 foram corretamente identificados como amostras positivas com quantificação de TREC baixa ou indetectável no teste duplicado (inicial e reteste). Entre estes, houve 2 casos de SCID-ADA e SCID com deficiência de PNP. As outras 3 amostras também tiveram valores baixos ou indetectáveis de TREC, porém o controle de ACTB foi considerado inválido, impossibilitando a classificação do caso como presumido positivo. Das 501 amostras prospectivas, 23 (4,6%) tinham um resultado inicial de TREC <40 cópias/μL na primeira testagem. Destes, utilizando um ponto de corte de 20 no segundo teste, nenhum foi identificado como positivo.

O valor médio de TREC em todas as amostras foi de 124 cópias/μL (mediana 99 cópias/μL). Apenas uma amostra foi coletada de um recém-nascido com menos de 32 semanas (47 TRECs/μL), que não foi considerada positiva usando o algoritmo definido. Os valores médios de TREC foram similares entre os prematuros com 32-36 semanas e os nascidos após 36 semanas.

Tagliaferri et al 2017(73)

Os autores conduziram um estudo com o objetivo de avaliar a viabilidade do uso de quantificação de TRECs para o rastreamento neonatal de SCID na Alemanha, utilizando PCR quantitativo, além de determinar pontos de corte específicos para o cenário local (através de análise de curva ROC). Foram coletados 6046 cartões consecutivos de amostras não selecionadas conforme os procedimentos de rastreamento neonatal adotados localmente. Doze dessas amostras foram excluídas por material insuficiente para análise. No total, foram consideradas 6034 amostras, que apresentaram uma distribuição de número de TRECs de 0,1–5109 cópias/picote (média 814 e mediana 600). A partir da análise de curva de ROC, foi calculado o ponto de corte de 95 cópias/picote de 1,6mm. Na testagem inicial, apenas TRECs foram analisados. Nos casos que não passaram na primeira testagem, uma segunda foi realizada, utilizando ACTB como controle. Apenas as amostras falhando à segunda análise foram consideradas elegíveis para *recall* não-anônimo e encaminhamento posterior.

Setenta amostras ficaram abaixo do ponto de corte no primeiro teste, sendo que destas 59 (85%) tiveram um segundo resultado acima do ponto de corte com controle de ACTB adequado. A taxa de reteste (segundo teste necessário de acordo com o ponto de corte) foi de 1,2%. Para 11 neonatos (15%), a análise de um segundo picote da mesma amostra foi necessário por falha na amplificação do DNA, sendo que 8 delas mostraram TRECs acima do ponto de corte. Assim, em 3 de 6034 amostras, a quantificação mostrou TRECs abaixo do valor

de corte. Estes neonatos foram considerados com diagnóstico suspeito de deficiência de células T e foram chamados para investigações adicionais (taxa de encaminhamento de 0,05%).

O método foi inicialmente validado em 11 controles positivos, sendo que todos mostraram uma contagem de TRECs igual a zero, indicando uma sensibilidade de 100%. Entre os controles, havia 8 SCID, 1 síndrome de DiGeorge e 1 Síndrome Nijmegen-Breakage e 1 paciente com depleção de células T após terapia com globulina antitímócito. Para avaliar a reprodutibilidade do método, as amostras destes pacientes foram testadas e retestadas, num total de 122 análises, sendo que em todas a quantificação de TRECs mostrou ausência ou apenas traços.

iii) Coortes populacionais

Kwan et al 2015(78)

Os autores apresentam a análise de 7.900 recém-nascidos submetidos a rastreamento de SCID com análise de TRECs em dois contextos: um estudo piloto inicial conduzido em dois hospitais da Nação Navajo a partir de 2009 e a coorte de neonatos submetidos ao programa de rastreamento neonatal que se tornou rotina na localidade a partir de 2012. Os dados são apresentados para os 7.900, incluindo 4 diagnósticos de SCID e um de LCT. As características principais do estudo e seus resultados estão apresentados na Tabela 20.

No estudo piloto, em termos operacionais, as coletas foram realizadas dentro dos procedimentos usuais de coleta de triagem neonatal, incluindo a amostra extra de sangue seco. Amostras com ≥ 100 TRECs/picote (equivalente a 33 TRECs/ μ L de sangue) foram consideradas normais, enquanto que aquelas com menos TRECs tiveram um segundo picote analisado para cópias de TREC e ACTB. Amostras com dois resultados pobres de PCR ou baixo número de TRECs com ACTB normal foram reportadas para os hospitais, permitindo que médicos assistentes contatassem as famílias conforme necessário para avaliação clínica.

A partir da inclusão do rastreamento de SCID na rotina de triagem neonatal na Nação Navajo, todos os recém-nascidos na região foram submetidos ao procedimento, conforme recomendações nacionais e usando algoritmo similar ao do estudo piloto. Os resultados dos primeiros 17 meses do programa foram discutidos conforme apresentados por Van Der Spek

et al 2015.(55) Descreveremos aqui os resultados da coorte populacional iniciada em 2012, desde o início em 2012, incluindo estes 17 meses e todos os demais recém-nascidos no período de seguimento. Nenhuma das 6.100 amostras coletadas e analisadas foram inconclusivas, mas 4 neonatos tiveram TRECs indetectáveis e foram diagnosticados como tendo SCID Artemis (SCID-A). Nos primeiros 17 meses, em 3.498 indivíduos foi identificado 1 caso de SCID-A. No período a seguir, outros 2.602 indivíduos com dados ainda não publicados foram analisados e outros 3 casos de SCID-A foram identificados

No total, 5 crianças, representando 1/1.580 nascimentos (IC95%: 1/870-3.300), foram classificadas como resultados anormais, sendo uma com valor baixo de TRECs e LCT associada com anomalias congênitas durante a fase piloto e 4 com TRECs indetectáveis e SCID-A com mutação comprovada durante o período de rastreamento de rotina. Todos os 5 indivíduos apresentaram contagem absoluta de linfócitos baixa e ausência de tecido do timo visível nas radiografias iniciais. Os 5 indivíduos receberam tratamento no centro de referência local, sendo que 1 deles evoluiu para o óbito aos 15 meses e os demais permaneciam em acompanhamento no momento da publicação.

Barbaro et al 2017(39)

Barbaro *et al* 2017 reportaram um programa piloto conduzido na Suécia durante um período de 2 anos, incluindo o rastreamento de 58.834 crianças. Tanto TRECs quanto KRECs foram medidos simultaneamente utilizando o método PCR em DNA extraído de amostras de sangue seco, tendo a ACTB como controle de qualidade para a quantidade de DNA extraído.

O estudo incluiu todas as crianças nascidas no Condado de Estocolmo entre novembro de 2013 e novembro de 2015, procurando por portadores de linfopenia de células T e B, para identificar formas graves de IDPs. O estudo adotou procedimento similares ao dos demais incluídos nesta revisão, incluindo reteste e repetição, conforme necessário, e um controle de qualidade com ACTB. Os pontos de corte foram ajustados durante o estudo com base no surgimento de amostras positivas.

Das 58.834 amostras, 572 foram identificadas como positivas ou inconclusivas (n = 399 e n = 173, respectivamente). Depois do reteste, 64 permaneceram positivas, isto é, 99,9% foram consideradas normais e não passaram por novas análises. Um total de 13 pacientes tiveram suas amostras consideradas de qualidade pobre e nova coleta foi realizada.

No total, 64 crianças foram convocadas para acompanhamento em razão de contagens baixas de TREC e/ou KREC e 3 pacientes com IDPs graves foram identificados. Entre as amostras positivas, vários neonatos tinham mais de um potencial fator causal contribuindo para os níveis baixos (Figura 5). Um total de 24 neonatos eram prematuros, incluindo um com trissomia do 21, e 11 eram gemelares ou trigemelares. Além disso, 13 eram nascidos de mães em terapia imunossupressora. Dos 64, 29 não tinham causa aparente para o resultado observado e, naquelas testadas posteriormente (n = 27), os níveis de TRECs e KRECs normalizaram espontaneamente com o tempo. Quatro novas coletas foram recusadas pelas famílias.

As 13 crianças nascidas de mães em uso de imunossupressores durante a gestação (azatioprina (n = 9), mercaptopurina (n = 1), azatioprine e tacrolimos (n = 3)) tiveram contagens baixas de TRECs ao nascer, que normalizaram espontaneamente em 2-10 semanas. Três pacientes foram identificados como tendo repetidamente níveis baixos de TREC e KREC (n=1) ou TREC isolado (n = 2) e foram diagnosticados com IDPs graves. O primeiro caso tinha uma mutação homozigótica no sítio de splicing no gene Artemis (DLCLRE1C c.333+2T>G) com expressão de proteína ausente e passou por um transplante de células tronco aos 2 meses, com sucesso. O segundo caso mostrou sinais clínicos de ataxia-telangiectasia e era um portador de uma mutação heterozigótica composta em ATM. O terceiro caso foi diagnosticado com uma linfopenia de células T e hipogamaglobulinemia, mas análises genéticas realizadas não foram capazes de localizar mutações conhecidas nos genes associados às IDPs.(39)

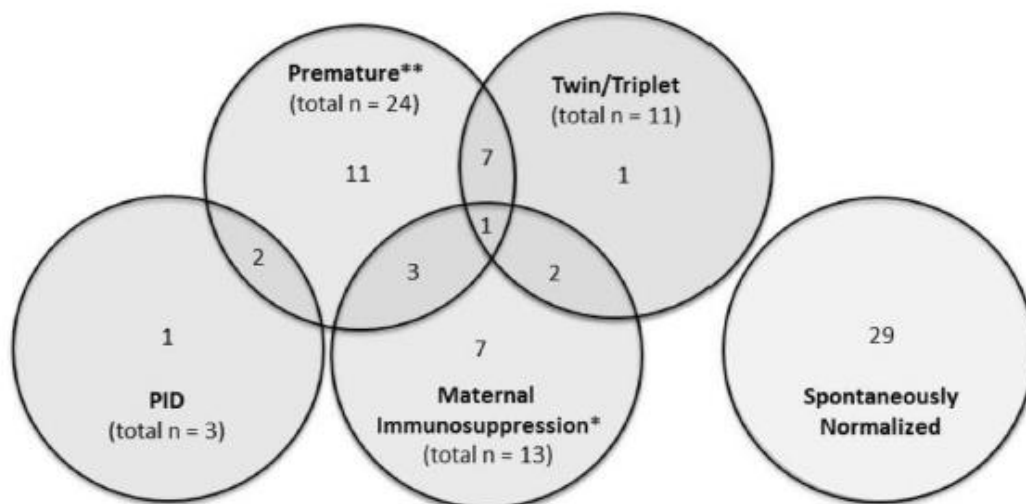


Figura 5. Características dos neonatos com rastreamento anormal que foram convocados para nova testagem.(39)

Rechavi et al 2017(81)

Os dados analisados pelos autores incluíram os resultados de TREC para neonatos nascidos em Israel entre outubro de 2015 e setembro de 2016, a partir da implementação do rastreamento de rotina no país. Um total de 188.162 recém-nascidos foram rastreados no período, mas após a exclusão de amostras com informações faltantes ou baixa qualidade de DNA (pelo controle de ACTB), 177.277 amostras permaneceram na análise.

O objetivo primário do programa de rastreamento israelense foi identificar casos de SCID (definida como células T CD3+ em sangue periférico menor do que 300/ μ l) ou SCID “leaky” (>300/ μ l). O alvo secundário foi identificar outras linfopenias não-SCID (classificadas em grupos: pacientes sindrômicos, linfopenia em razão de causas secundárias, prematuridade ou etiologia desconhecida).

O número mediano de cópias de TREC por amostra foi de 107 (percentis 25-75: 69-169). Nasceram prematuros 12.880 indivíduos (7,26%). O ponto de corte para reteste foi de 36 cópias de TREC por amostra e foi gradualmente reduzido para 23 no último ano de análise. Em 561 casos (0,3%), um segundo cartão de Guthrie foi solicitado seguindo um resultado inicial positivo. Foram encaminhados para testes confirmatórios e avaliações adicionais 46 crianças (0,02%), após 2 cartões seguidos com resultados positivos. Durante o primeiro ano, 8 crianças foram diagnosticadas com SCID ou SCID “leaky” e 11 outras receberam um diagnóstico falso positivo. História familiar de casamento consanguíneo e origem árabe muçulmana foi mais frequente nos pacientes com SCID (7 de 8) comparados ao grupo falso positivo (1 e 3 respectivamente). Todos os testes confirmatórios e o acompanhamento clínico dos pacientes falso positivos foram normais. Os pacientes com SCID apresentaram todos linfopenia, sendo 5 classificados como SCID e 3 como “leaky” de acordo com o número de células T CD3+ autólogas. Quatro pacientes tinham SCIDs variantes com contagem normal de células B (B+ SCID) e 4 tinham variantes com contagens diminuídas de células B (B- SCID). Todos tinham contagem normal de células NK.

Foi observada correlação entre resultado de TRECs e idade gestacional (correlação fraca, 0,256, $p < 0,001$) apenas nos prematuros extremos, sem significância para os outros grupos de idade gestacional. Observou-se, ainda, associação entre peso ao nascer e TRECs (quanto maior o peso ao nascer, maior a contagem de TRECs). A correlação foi mais pronunciada entre os prematuros extremos do que nos outros grupos.

Tabela 19. Características dos estudos de série de casos de pacientes sabidamente portadores.

Autor (ano)	Referência	Localidade	Parâmetro	Ponto de corte	Nº avaliado	Diagnósticos detectados	Diagnósticos não-detectados
Olbrich <i>et al</i> 2014	(80)	Espanha	TREC + KREC	15 TRECs/ μ l 10 KRECs/ μ l	5	SCID tipo T negativo, B positivo (1), XLA (2) e ataxia e linfopenia de células T grave (2)	-
de Felipe <i>et al</i> 2016	(77)	Espanha	TREC + KREC	6 TRECs/punch 4 KRECs/punch	7	SCID (4), XLA (2) e ataxia-telangiectasia (1)	-
Kanegae <i>et al</i> 2016	(3)	Brasil	TREC	30/26 TRECs/ μ l	7	SCID (5); Síndrome de DiGeorge (2)	-
Blom <i>et al</i> 2017	(76)	Holanda	TREC	40 TRECs/ μ l	22	SCID (22)	-
Kanegae <i>et al</i> 2017	(10)	Brasil	TREC + KREC	15 TRECs/ μ l 14 KRECs/ μ l	8	SCID (3); Síndrome de DiGeorge (1); agamaglobulinemia (4)	-
Nourizadeh <i>et al</i> 2017	(79)	Irã	TREC + KREC	11 TRECs/3,2mm 6 KRECs/3,2mm	57	SCID (31); XLA (9); CID (17)	-
Richards <i>et al</i> 2017	(82)	Australia	TREC	20 TRECs/ μ l	14	SCID ou DiGeorge (11)	3 amostras foram invalidadas pelo controle de beta-actina
Tagliaferri <i>et al</i> 2017	(73)	Alemanha	TREC	95 TRECs/punch	11	SCID (8); síndrome de DiGeorge (1); Síndrome Nijmegen-Breakage (1); depleção de células T após terapia com globulina antitimócito (1)	-

SCID: imunodeficiência combinada grave; KREC: Círculos de excisão de recombinação de deleção de kappa; TREC: T-cell receptor excision circles; XLA: agamaglobulinemia ligada ao X.

Tabela 20. Características e resultados dos algoritmos utilizados para screening neonatal de SCID em estudos piloto e coortes de base populacional.

Autor (ano)	Ref	Local	Parâmetro	Ponto de corte	N	N° reteste	N° repetições da coleta	N° referência	N° SCID	N° outras LCT	VPP SCID [% (IC95%)]	VPP LCT [% (IC95%)]	SCID/ 100.000	LCT/ 100.000
Estudos Piloto														
Olbrich <i>et al</i> 2014	(80)	Espanha	TREC+KREC	15 TRECS/ μ l 10 KRECS/ μ l	1.068	0,75%	0,09%	0,00%	0	0	NA	NA	NA	NA
de Felipe <i>et al</i> 2016	(77)	Espanha	TREC+KREC	6 TRECS /punch 4 KRECS/ punch	5.279	1,50%	0,19%	0,10%	0	0	NA	NA	NA	NA
Kanegae <i>et al</i> 2016	(3)	Brasil	TREC	26 TRECS	8.682	0,56%	0,43%	0,03%	0	0	NA	NA	NA	NA
Blom <i>et al</i> 2017	(76)	Holanda	TREC	40 KRECS/ μ l	1.295	3,00%	NA	NA ^b	0	0	NA	NA	NA	NA
Kanegae <i>et al</i> 2017	(10)	Brasil	TREC+KREC	15 TRECS/ μ l 14 KRECS/ μ l	6.881	NR	NR	0,02%	0	0	NA	NA	NA	NA
Nourizadeh <i>et al</i> 2017	(79)	Irã	TREC+KREC	11 TRECS/3,2mm 6 KRECS/3,2mm	1.980	1,50%	NA	NA ^d	NR	NR	NA	NA	NA	NA
Richards <i>et al</i> 2017	(82)	Australia	TREC	40 e 20 TRECS/ μ l	501	4,60%	0,80%	0,00%	0	0	NA	NA	NA	NA
Tagliaferri <i>et al</i> 2017	(73)	Alemanha	TREC	95 TRECS/punch	6.034	1,2%	NA	0,05%	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Coortes de base populacional														
Kwan 2015	(78)	EUA, Nação Navajo	TREC	25 TRECS/ μ l	7.900	NR	NR	0,06%	4	1	NA ^c	NA ^c	50,63	12,65
Barbaro <i>et al</i> 2017	(39)	Suécia	TREC+KREC	8, 10 e 15 TRECS/3,2mm 4, 6 e 10 KRECS/3,2mm ^a	58.834	0,90%	0,16%	0,16%	0	3	NA	3,19 (2,61-3,89)	NA	5,09
Rechavi <i>et al</i> 2017	(81)	Israel	TREC	36 TRECS/amostra 22 TRECS/ amostra ^a	177.277	NR	0,3%	0,02%	8	27	42,11(28,71-56,77)	NA ^c	4,5	15,23

NA: não aplicável; NR: não reportado; ^a mais de um ponto de corte foram adotados durante o estudo; ^b não houve seguimento clínico no estudo (retrospectivo), porém 21 amostras (1,62%) permaneceram positivas após reteste; ^c dados reportados insuficientes para o cálculo; ^d não houve seguimento clínico no estudo (retrospectivo), porém 3 amostras (0,15%) foram consideradas positivas após reteste e 9 (0,45%) foram anormais no primeiro teste e não puderam ser retestadas.

4.7 Resultados da busca realizada (Estudos econômicos)

4.7.1. Seleção dos artigos

Após a realização da busca nas bases de dados, 24 títulos (excluídas duplicatas) foram localizados. Aplicados os critérios de elegibilidade, dois revisores selecionaram 6 estudos para leitura na íntegra, sendo que todos eles foram incluídos na versão final da revisão de dados econômicos (Figura 6).

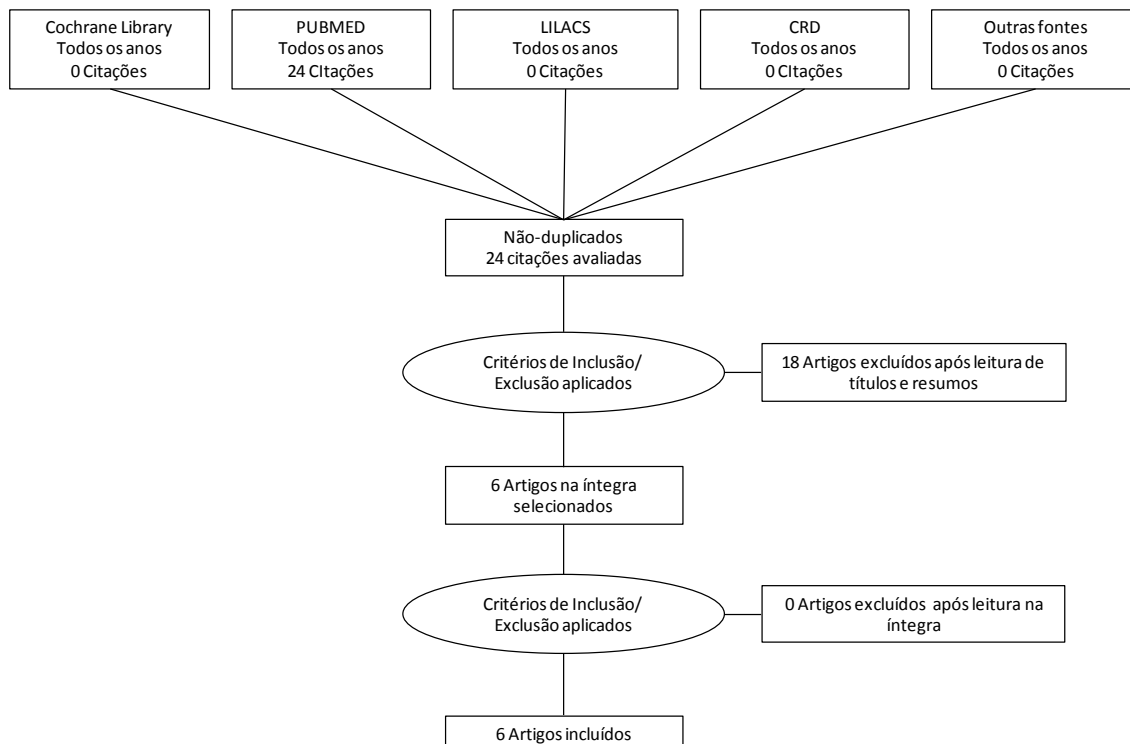


Figura 6. Fluxograma de seleção de estudos (Estudos Econômicos).

4.7.2. Descrição dos estudos econômicos selecionados

McGhee et al 2005(83)

McGhee *et al* 2005(83) conduziram uma avaliação econômica preliminar com o objetivo de determinar a provável relação de custo-efetividade da triagem de SCID e se o desenvolvimento de testes de triagem validados poderiam ser justificados com base nesse resultado. Um modelo foi construído para determinar os limiares nos quais a triagem para SCID se tornaria custo-efetiva de acordo com os diferentes valores de disposição a pagar.

A Tabela 21 mostra os valores limites em que o teste se torna custo-efetivo de acordo com a disposição de pagar.

Tabela 21. Valores limites do teste de rastreamento de acordo com a disposição a pagar. McGhee *et al* 2005.(83)

Variável	Disposição a pagar		
	USD 50.000/QALY	USD 75.000/QALY	USD 100.000/QALY
Taxa de falso negativo	0,9%	45,0%	61,2%
Taxa de falso positivo	0,4%	2,1%	3,2%
Custo do teste	USD 4,97	USD 9,80	USD 14,85
Incidência	1:49.700	1:92.100	1:125.600
Custo do tratamento	USD 59.900	USD 708.600	USD 1.357.300
Custo do seguimento	USD 280	USD 1.675	USD 3.087

QALY: *quality-adjusted years of life* (anos de vida ajudados pela qualidade).

A probabilidade global do rastreamento de SCID ser custo efetivo frente às incertezas nas estimativas variáveis está demonstrada na Figura 7. Assim, considerando um limite de USD 100.000/QALY como disposição a pagar, tem-se uma probabilidade de 86% do rastreamento de SCID ser custo efetivo.

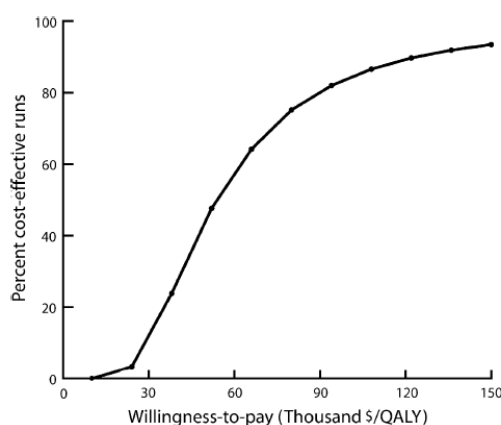


Figura 7. Curva de aceitabilidade da custo-efetividade. McGhee *et al* 2005.(83)

Considerando as premissas adotadas neste estudo, o custo para identificar e tratar cada caso adicional de SCID seria de USD 485.000. Generalizando estes resultados para a população de nascidos anualmente nos EUA (quatro milhões), o custo para implementar apenas o rastreamento para SCID seria de USD 23.920.000. Entretanto, isso resultaria em 760 anos de vida salvos para cada ano de rastreamento.

Os autores concluíram que o rastreamento de SCID pode ser extremamente benéfico para os pacientes e isso torna o teste relativamente custo-efetivo mesmo com a baixa incidência desta enfermidade.

Chan et al 2011 (84)

Chan *et al* 2011 (84) conduziram uma análise econômica com o objetivo de testar se os benefícios da detecção precoce de SCID excederiam os custos do rastreamento universal desta doença. Para tal, a história natural da SCID foi simulada utilizando modelos de Markov das progressões dos pacientes através de variados estados de saúde.

Foram calculados o custo total, o número de anos de vida salvos e QALY salvos, considerando um horizonte de 70 anos, em dois cenários: com o rastreamento e sem o rastreamento. A razão de custo-efetividade incremental descontada foi de USD 25.429/ano de vida e USD 27.907/QALY. A implementação do teste TREC para o rastreamento de SCID custaria USD 22,4 milhões, apresentando um ganho de 880 anos de vida e 802 QALYs. Previu-se um custo incremental do rastreamento de USD 5,44 por recém-nascido.

Tabela 22. Avaliação do custo do caso-base e medidas projetadas de desfechos em saúde. Chan et al 2011.(84)

Variáveis	Custo e efetividade	Programa de rastreamento nos EUA*
Custo (USD)		
Sem rastreamento	8,892548	
Com rastreamento	14,334449	
Incremental	5,441901	
Custo		22.377.379
Efetividade (ano de vida)		
Sem rastreamento	28,684523	
Com rastreamento	28,684737	
Incremental	0,000214	
Ano de vida		880
Efetividade (QALYs)		
Sem rastreamento	28,684513	
Com rastreamento	28,684708	
Incremental	0,000195	
QALYs		802
Razão de custo-efetividade incremental (USD/ano de vida salvo)	25.429	
Razão de custo-efetividade incremental (USD/QALY)	27.907	

Dólar americano no ano de 2003. Ano de vida e QALY foram descontados em 3%. QALY: *quality-adjusted years of life* (anos de vida ajustados pela qualidade). *A coorte americana incluiu 4.112.052 nascimentos em 2003.

Assumindo a incidência de SCID de 1/75.000 nascimentos e especificidade e sensibilidade do teste de 0,99 cada, o rastreamento segue custo-efetivo, até o custo máximo de USD 15 por bebê testado.

A análise de sensibilidade mostrou que, para uma disposição a pagar de USD 50.000/QALY, o rastreamento é preferível se a incidência de SCID for de pelo menos 1/250.000. Quando o custo do transplante tardio de células hematopoiéticas é 7,5 vezes maior que o mesmo procedimento realizado precocemente, o rastreamento é preferível como estratégia para minimizar os custos e aumentar a expectativa de vida. Logo, o rastreamento parece ser dominante e capaz de promover uma redução nos custos em todos os cenários em que a disposição a pagar é de USD 50.000/QALY.

Na simulação de Monte Carlo foi identificado que o ponto de indiferença foi o valor de USD 63.000. Neste ponto, a probabilidade de preferência pelo rastreamento e não rastreamento foram iguais (a proporção de custo-efetividade é de 0,50). Se a sociedade estiver disposta a pagar USD 100.000/QALY, a probabilidade de preferência pelo rastreamento para SCID em recém-nascidos é de 78%.

Os autores concluíram que, considerando a estimativa de custo de USD 4,22/bebê, o rastreamento universal seria, além de custo-efetivo, uma maneira de melhorar a qualidade de vida e a expectativa de vida das crianças com SCID.

Kubiak et al 2014 (30)

Kubiak *et al* 2014 (30) conduziu uma análise econômica retrospectiva com o objetivo de avaliar a custo-efetividade do rastreamento em recém-nascidos para o tratamento de SCID precoce (<3,5 meses) em comparação com o tratamento tardio (≥3,5 meses) em uma população dos EUA. Foram incluídos nesta análise todos os casos de SCID tratados em três centros entre 2005 e 2011. Os custos hospitalares foram coletados retrospectivamente para todos os pacientes incluídos no estudo.

Durante o período estudado, foram identificados 25 casos de SCID. O custo médio para o transplante precoce foi aproximadamente um quarto do custo do mesmo procedimento

realizado tardiamente (USD 365.785 *versus* USD 1,4 milhões, respectivamente), o que significa uma economia de mais de um milhão com o transplante precoce (Figura 8).

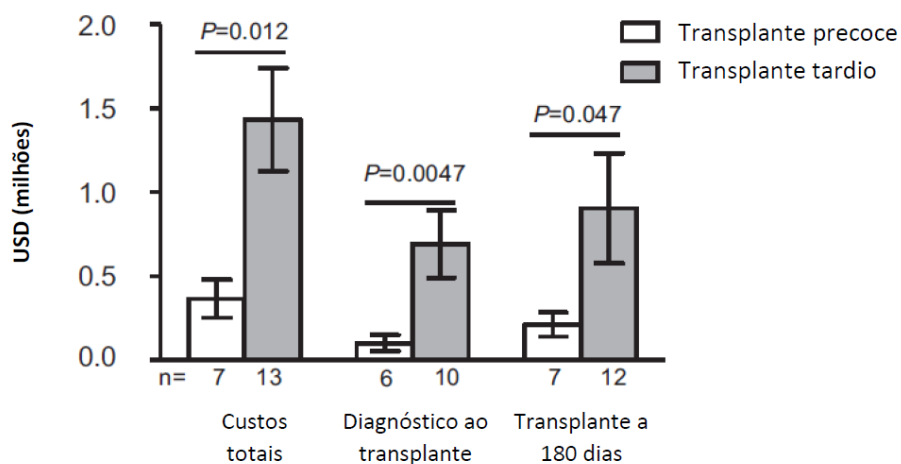


Figura 8. Custos hospitalares médios para transplantes tardios e precoces. Kubiak *et al*, 2014.
(30)

Os gastos médios individuais também foram menores para o uso do transplante precoce frente ao transplante tardio (farmácia: USD 153.450 *versus* USD 326.592; terapia intravenosa: USD 3.518 *versus* USD 8.261; suprimentos: USD 63.814 *versus* USD 81.246; e laboratório: USD 146.013 *versus* USD 226.607).

Os custos médios com o tratamento intensivo e sala de cirurgia/anestesia para o tratamento tardio foram aproximadamente de cinco a quatro vezes maior que o tratamento precoce (USD 350.252 *versus* USD 66.379 e USD 57.105 *versus* USD 15.885, respectivamente), o que se justifica pela gravidade dos pacientes que receberam tratamento tardio que requerem maior período de internação em unidades de tratamento intensivo (Figura 9).

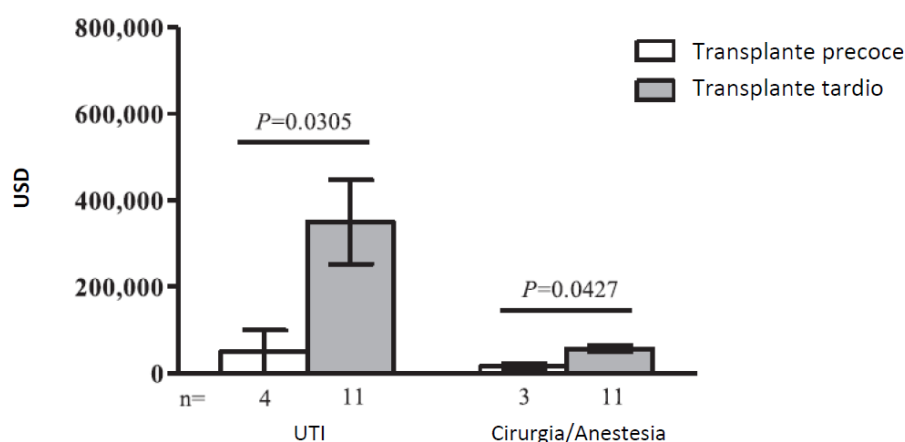


Figura 9. Custos médios com internações em unidades de terapia intensiva e centro cirúrgico/anestesia para transplantes tardios e precoces. Kubiak *et al* 2014.(30)

Os autores concluem que o custo-efetividade do tratamento precoce da SCID suporta economicamente a inclusão dos testes de rastreamento para esta doença em recém-nascidos em todos os estados americanos.

Modell *et al* 2014(29)

Modell *et al* 2014(29) conduziram um estudo com o objetivo de avaliar o custo-efetividade do rastreamento de SCID em recém-nascidos. Para isto, um algoritmo foi desenvolvido e validado (Figura 10). Para estimar o perfil de custo-efetividade, os autores assumiram como exemplo um cenário em que ocorrem 100.000 nascimentos por ano e uma incidência projetada de SCID ou outras linfopenias de células T de aproximadamente 1:33.000 recém-nascidos. Usando estas premissas, a árvore de decisão estima 3 novos casos por ano.

Nos cenários desenhados pelos autores, o custo do teste é de aproximadamente USD 4,25 por bebê, incluindo equipamentos, reagentes e mão de obra. O custo do transplante de um recém-nascido é de USD 120.000. O custo do cuidado pós-transplante durante os cinco anos seguintes pode chegar a USD 200.000 para um recém-nascido. Logo, o custo para rastrear 100 mil recém-nascidos e tratar um paciente seria de USD 745.000. Já o custo para rastrear o mesmo número de recém-nascidos e tratar três pacientes seria de USD 1.385.000.

De acordo com os autores, se os neonatos não são rastreados ao nascer, os casos positivos vão desenvolver infecções significativas e hospitalizações, resultando em custos estimados em pelo menos 2 milhões de dólares no primeiro ano de vida. Dada a incidência adotada e a população

sob risco, os custos totais de cuidar dos 3 casos presumidos afetados que não foram identificados por rastreamento poderiam atingir até 6 milhões de dólares em recursos médicos.

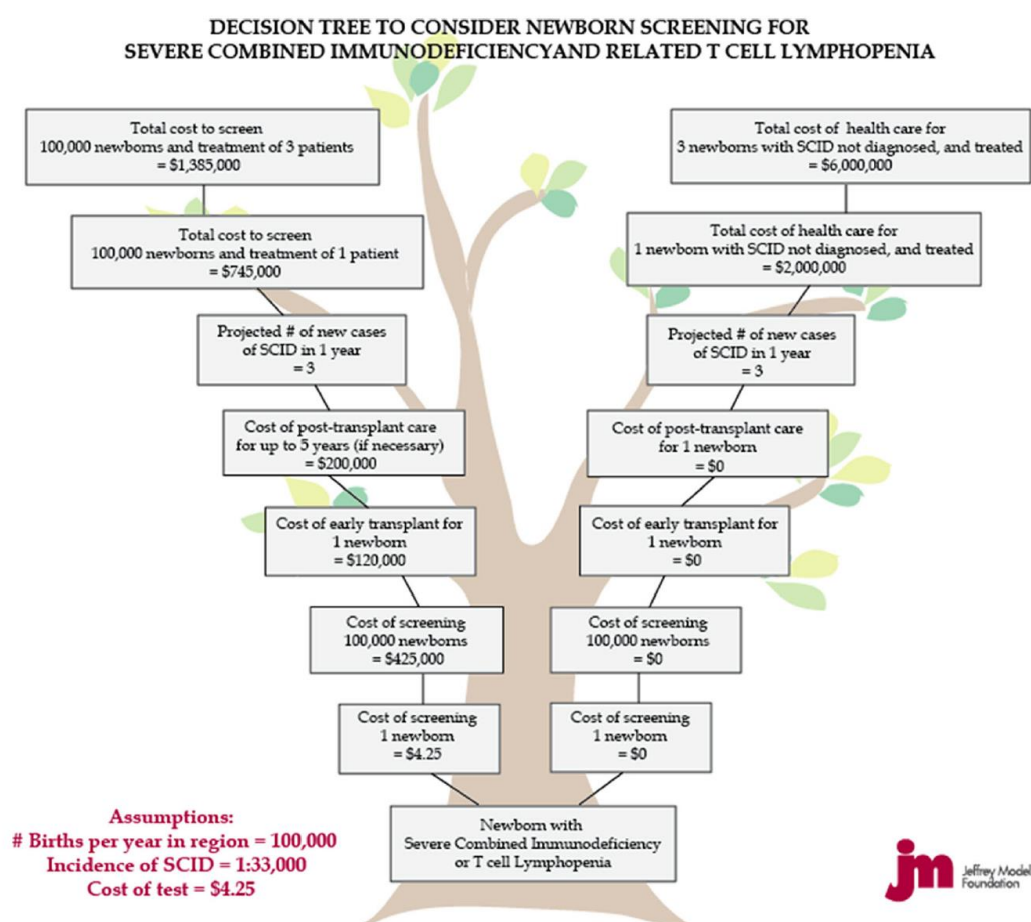


Figura 10. Ferramenta de decisão para implementação de rastreamento de SCID em recém-nascidos. Modell *et al* 2014.(29)

Os autores concluíram que a implementação do teste de rastreamento não é somente custo-efetiva como também permite o tratamento precoce que pode ser determinante para salvar a vida dos pacientes.

Clément et al 2015(31)

Clément *et al* 2015(31) conduziram uma análise de custo-efetividade baseada em dados de vida real da França. O objetivo desta análise foi explorar os custos que incorrem e são potencialmente economizados pelo tratamento precoce da SCID.

O custo unitário para os testes laboratoriais variou entre EUR 4,69 e EUR 6,79 para o teste de 33.800 amostras por ano, dependendo se o equipamento é totalmente dedicado para esses testes e da saturação dele.

O uso precoce de transplante de células tronco parece não apenas reduzir o custo total, mas também o custo total por criança por dia, refletindo a menor necessidade de internação em unidade de terapia intensiva. Entretanto, esta diferença não foi significativa nesta amostra dado o baixo número de pacientes que receberam transplante precoce. Os autores também estimaram custos com cuidados sociais e benefícios governamentais (perspectiva da sociedade) para 16 dos 27 pacientes que foram submetidos ao transplante tardio e para os três pacientes que passaram pelo transplante precoce. O montante mediano total fornecido para as famílias foi de EUR 9.557 (média de EUR 8.836) durante um período de um ano. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os montantes dos grupos de tratamento precoce e tardio.

Os autores analisaram, ainda, os custos estimados com transplante comparando os pacientes com infecção ativa no momento do procedimento com aqueles sem infecção ativa. Os resultados sugerem que uma infecção ativa no momento do transplante pode contribuir para desfechos piores e maiores custos com uma vantagem econômica de EUR 40.000 para pacientes sem infecção ativa.

Os autores concluem que o rastreamento universal é custo-efetivo e ajuda a promover o tratamento precoce, finalmente resultando em redução de custos com a doença.

Ding et al 2016(85)

Ding *et al* 2016 (85) construíram um modelo de análise de decisão com o objetivo de avaliar o custo-efetividade e o benefício líquido da implementação do rastreamento de SCID em recém-nascidos no estado de Washington (EUA). Para tal, eles consideraram uma coorte com 86.600 nascimentos anuais.

Segundo o modelo desenvolvido, o custo anual estimado para rastreamento, diagnóstico e manejo de pacientes sem SCID foi estimado em USD 8,16 por criança. Estimou-se que a redução no custo de tratamento com a utilização do rastreamento (USD 316.905) foi responsável por compensar 43% do custo adicional do rastreamento (USD 741.376).

A razão de custo-efetividade incremental foi de USD 35.311 por ano de vida salvo. Segundo a análise de sensibilidade, a variável que mais impactou na razão de custo-efetividade incremental foi o custo do tratamento por pacientes com SCID identificados tardiamente que receberam transplante de células hematopoiéticas como primeira linha de tratamento. A razão de custo-efetividade incremental variou de USD 45.526 até valores negativos enquanto esta variável variou de USD 300.000 para USD 1,2 milhões. O rastreamento de recém-nascidos só se torna custo-efetivo quando a variável acima mencionada ultrapassa o valor de USD 968.600. A Figura 11 apresenta o diagrama de tornado para a análise de sensibilidade univariada.

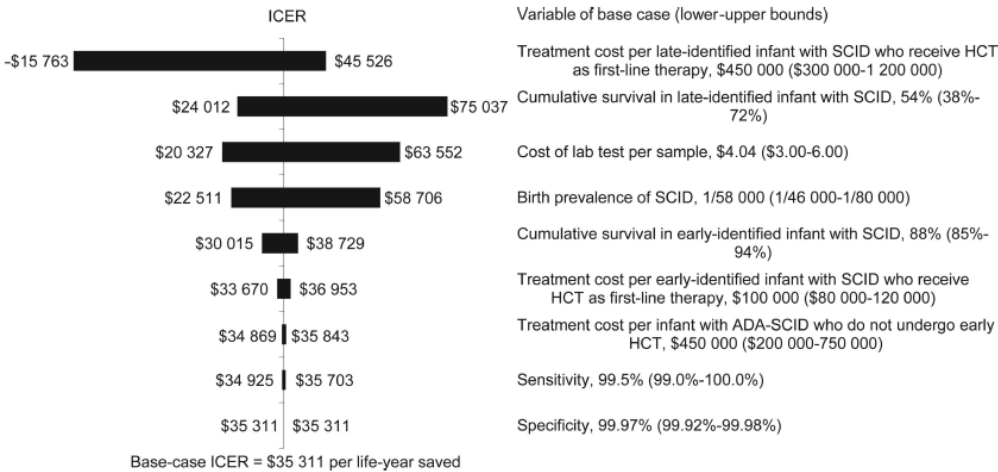


Figura 11. Diagrama de tornado para análise de sensibilidade univariada. Ding *et al*, 2016.(85)

Os autores concluem que o modelo indica que o rastreamento de SCID em recém-nascidos é custo-efetivo e apresenta benefícios econômicos líquidos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As imunodeficiências primárias, em particular a imunodeficiência combinada grave e a agamaglobulinemia, representam condições que comprometem de forma marcante a imunidade dos indivíduos portadores, com impactos variáveis que incluem: sobrevida restrita aos primeiros anos de vida (no caso da SCID) e expectativa de vida bastante inferior à da população geral (no caso da agamaglobulinemia); elevado consumo de recursos em saúde em razão do tratamento (curativo ou de reposição), mas em particular do manejo de complicações (episódios infecciosos, complicação inflamatórias e autoimunes, neoplasias etc.); custos elevados para o sistema de saúde e família; comprometimento da qualidade de vida dos indivíduos, com redução de produtividade no trabalho e escola, além dos anos de vida perdidos.

O teste para quantificação de TRECs e KRECs possui sólido corpo de evidências demonstrando alta sensibilidade (100% nos estudos incluídos nesta revisão) na detecção de linfopenias de células T e B, como desejável para um teste de triagem/rastreamento. Em relação à especificidade, ela também foi alta na maioria dos estudos, com alguma variabilidade decorrente da presença de “falsos positivos” (indivíduos cujo teste inicial indicou valores anormais de TRECs ou KRECs, mas que eventualmente novas análises demonstraram ausência de SCID e/ou agamaglobulinemia). A taxa de falsos positivos é representada, a depender do estudo e algoritmo utilizado, pela taxa de reteste, repetição e/ou de encaminhamento para avaliações adicionais, deduzidos os casos verdadeiramente positivos. Neste sentido, foi altamente dependente do algoritmo selecionado para o estudo piloto ou para o programa de rastreamento neonatal em análise, uma vez que o processo de confirmação de um primeiro teste positivo foi variável nos cenários. Outro ponto relevante no que diz respeito à acurácia do rastreamento através da quantificação de TRECs e KRECs é a forma de abordar os prematuros, com baixo peso ao nascer, filhos de mães em uso de terapia imunossupressiva e/ou outras condições que demonstraram ser fatores de risco para alteração na contagem de TRECs e KRECs na ausência de IDPs. Destaca-se que os testes para quantificação de TRECs e KRECs já se encontram disponíveis no Brasil.

A qualidade dos estudos, considerando os critérios usualmente empregados em estudos de rastreamento (que diferem um pouco daqueles utilizados para estudos de diagnóstico), foi considerada adequada, tendo tido como principal limitação a não aplicação de testes confirmatórios de referência para os indivíduos negativos ao rastreamento. De todo modo,

esta limitação é usual em avaliação do desempenho de testes de rastreamento, em particular em grandes amostras, uma vez que seria necessário submeter indivíduos a priori saudáveis a testes invasivos adicionais, o que seria questionável do ponto de vista ético em particular na população em questão (recém-nascidos). Testes confirmatórios confiáveis e acurados foram aplicados para confirmar o diagnóstico presumido de SCID e agamaglobulinemia, conforme padrões internacionalmente aceitos para confirmação diagnóstica das doenças.

A experiência de rastreamento para SCID e/ou agamaglobulinemia em contextos em que ele já foi implementado de rotina (EUA, Suécia, Israel, China) tem demonstrado que é factível incluir a quantificação de TRECs e KRECs na rotina do teste do pezinho, utilizando os sistemas já existentes para tal. Adicionalmente, o rastreamento para SCID e agamaglobulinemia, conforme demonstrado na Tabela 4 da seção “Análise crítica comparativa com outros testes cobertos no âmbito do rastreamento neonatal de rotina”, atende aos critérios da Organização Mundial de Saúde para testes de rastreamento, endossados pelo Ministério da Saúde através dos documentos Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Rastreamento Neonatal(40) e Caderno de Atenção Básica: Rastreamento.(41) Comparativamente a outras doenças cujo rastreio já está incorporado no âmbito da saúde suplementar, SCID e a agamaglobulinemia apresentam estimativas de frequência semelhantes à de algumas aminoacidopatias.

O benefício mais pronunciado do rastreamento da SCID e agamaglobulinemia durante o período neonatal é a implementação do tratamento precoce. No caso da SCID, evidências de estudos observacionais têm demonstrado que a possibilidade de receber TCTH precocemente, antes dos 3,5 meses, mas eventualmente ainda no período neonatal, aumenta a sobrevivência dos pacientes, com potencial curativo. Para agamaglobulinemia, estudos observacionais também verificaram benefícios na redução de infecções invasivas e sistêmicas, bem como complicações de longo prazo (como doença pulmonar crônica), quando o diagnóstico é feito precocemente e a terapia de reposição com imunoglobulinas é iniciada tão logo seja possível.

Estudos de custo da doença e avaliações de custo-efetividade têm indicado que o rastreamento é economicamente viável, em particular se considerados os custos aumentados associados ao transplante tardio ou na vigência de infecção na SCID. Neste contexto, o perfil de custo-efetividade do rastreamento está bastante vinculado ao custo final do transplante, bem como das complicações associadas às condições rastreadas.

6 REFERÊNCIAS

1. Chiarini M, Zanotti C, Serana F, Sottini A, Bertoli D, Caimi L, et al. T-cell receptor and K-deleting recombination excision circles in newborn screening of T- and B-cell defects: review of the literature and future challenges. *J Public health Res.* 2013 May 1;2(1):3.
2. Kanegae MPP, Santos AM, Cavalcanti CM, Neto AC. Triagem neonatal para imunodeficiência combinada grave. *Rev Bras Alerg e Imunopatol.* 2011;34(1):7–11.
3. Kanegae MPP, Barreiros LA, Mazzucchelli JTL, Hadachi SM, de Figueiredo Ferreira Guilhoto LM, Acquesta AL, et al. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil. *J Pediatr (Rio J).* 2016;92(4):374–80.
4. Kwan A, Puck JM. History and current status of newborn screening for severe combined immunodeficiency. *Semin Perinatol.* 2015;39(3):194–205.
5. Smith CE, Berglöf A. X-Linked Agammaglobulinemia. *GeneReviews®.* University of Washington, Seattle; 2016.
6. Singh S, Rawat A, Suri D, Gupta A, Garg R, Saikia B, et al. X-linked agammaglobulinemia: Twenty years of single-center experience from North West India. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2016 Oct;117(4):405–11.
7. García-García E, Staines-Boone AT, Vargas-Hernández A, González-Serrano ME, Carrillo-Tapia E, Mogica-Martínez D, et al. Clinical and mutational features of X-linked agammaglobulinemia in Mexico. *Clin Immunol.* 2016 Apr;165:38–44.
8. Immune Deficiency Foundation. Agammaglobulinemia: X-Linked and Autosomal Recessive [Internet]. 2018 [cited 2018 Aug 23]. Available from: <https://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/specific-disease-types/agammaglobulinemia-x-linked-autosomal-recessive>
9. Buelow BJ, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for SCID: lessons learned. *Expert Rev Hematol.* 2016;9(6):579–84.
10. Kanegae MPP, Barreiros LA, Sousa JL, Brito MAS, Oliveira Junior EB de, Soares LP, et al. Triagem neonatal de imunodeficiências graves combinadas por meio de Trecs e Krecs: Segundo estudo piloto no Brasil. *Rev Paul Pediatr.* 2017;35(1):25–32.
11. Chen X-F, Wang W-F, Zhang Y-D, Zhao W, Wu J, Chen T-X. Clinical characteristics and genetic profiles of 174 patients with X-linked agammaglobulinemia: Report from Shanghai, China (2000-2015). *Medicine (Baltimore).* 2016 Aug;95(32):e4544.
12. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J-L, Chatila T, Conley ME, et al. Primary

- Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol*. 2015 Nov 19;35(8):696–726.
13. Durandy A. Autosomal recessive forms of agammaglobulinemia. *Orphanet Encycl*. 2002;(December):1–2.
 14. Soresina A, Nacinovich R, Bomba M, Cassani M, Molinaro A, Sciotto A, et al. The quality of life of children and adolescents with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Immunol*. 2009;29(4):501–7.
 15. Plebani A, Soresina A, Rondelli R, Amato GM, Azzari C, Cardinale F, et al. Clinical, immunological, and molecular analysis in a large cohort of patients with X-linked agammaglobulinemia: An Italian Multicenter Study. *Clin Immunol*. 2002;104(3):221–30.
 16. Conley ME, Mathias D, Treadaway J, Minegishi Y, Rohrer J. Mutations in btk in patients with presumed X-linked agammaglobulinemia. *Am J Hum Genet*. 1998;62(5):1034–43.
 17. Aghamohammadi A, Abolhassani H, Kutukculer N, Wassilak S, Pallansch M, Kluglein S, et al. Patients with primary immunodeficiencies are a reservoir of Poliovirus and a risk to Polio eradication. *Front Immunol*. 2017;8:1–10.
 18. Tebbens RJD, Pallansch MA, Thompson KM. Modeling the prevalence of immunodeficiency-associated long-term vaccine-derived poliovirus excretors and the potential benefits of antiviral drugs. *BMC Infect Dis*. 2015;15(379):1–18.
 19. Puck JM. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: The winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Mar;129(3):607–16.
 20. Rizzo LV. Diagnóstico precoce das imunodeficiências combinadas graves. *Rev Paul Pediatr*. 2017;35(1):17.
 21. Borte S, Dobeln U Von, Fasth A, Wang N, Janzi M, Winiarski J, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood*. 2012;119(11):2552–5.
 22. King J, Borte S, Brodzski N, von Döbeln U, Smith CIE, Hammarström L. Kappa-deleting recombination excision circle levels remain low or undetectable throughout life in patients with X-linked agammaglobulinemia. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018 Jun;29(4):453–6.
 23. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, et al. Quantification of κ-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):223–5.

24. Madkaikar M, Aluri J, Gupta S. Guidelines for Screening, Early Diagnosis and Management of Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in India. *Indian J Pediatr.* 2016;83(5):455–62.
25. NHS Foundation. Severe combined immunodeficiency (SCID) | Great Ormond Street Hospital [Internet]. 2017 [cited 2018 Aug 24]. Available from: <https://www.gosh.nhs.uk/conditions-and-treatments/conditions-we-treat/severe-combined-immunodeficiency-scid>
26. Goudouris ES, Silva AM do R, Ouricuri AL, Grumach AS, Condino-Neto A, Costa-Carvalho BT, et al. II Brazilian Consensus on the use of human immunoglobulin in patients with primary immunodeficiencies. *Einstein (São Paulo).* 2017 Mar;15(1):1–16.
27. Bryan BA, Battersby A, Shillitoe BMJ, Barge D, Bourne H, Flood T, et al. Respiratory Health and Related Quality of Life in Patients with Congenital Agammaglobulinemia in the Northern Region of the UK. *J Clin Immunol.* 2016;36(5):472–9.
28. Modell V, Quinn J, Ginsberg G, Gladue R, Orange J, Modell F. Modeling strategy to identify patients with primary immunodeficiency utilizing risk management and outcome measurement. *Immunol Res.* 2017;65(3):713–20.
29. Modell V, Knaus M, Modell F. An analysis and decision tool to measure cost benefit of newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID) and related T-cell lymphopenia. *Immunol Res.* 2014 Oct 6;60(1):145–52.
30. Kubiak C, Jyonouchi S, Kuo C, Garcia-Lloret M, Dorsey MJ, Sleasman J, et al. Fiscal Implications of Newborn Screening in the Diagnosis of Severe Combined Immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014 Nov;2(6):697–702.
31. Clément MC, Mahlaoui N, Mignot C, Le Bihan C, Rabetrano H, Hoang L, et al. Systematic neonatal screening for severe combined immunodeficiency and severe T-cell lymphopenia: Analysis of cost-effectiveness based on French real field data. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Jun;135(6):1589–93.
32. Borte S. Newborn screening for severe primary immunodeficiencies. *Karolinska Institutet*; 2014.
33. Serpa F, Cruz Á, Neto A, Silva E, Franco J, Mello J, et al. O atendimento médico de pacientes com doenças imunoalérgicas no Brasil: reflexões e propostas para a melhoria – Carta de Belo Horizonte. *Arq Asma, Alerg e Imunol.* 2017;1(4):327–34.
34. Pfisterer JC, Martini SV, Errante PR. Imunodeficiência combinada grave: uma revisão da literatura. *Brazilian J Allergy Immunol.* 2014;2(2):56–65.
35. Borte S, Von Döbeln U, Hammarström L. Guidelines for newborn screening of primary

- immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol*. 2013;20(1):48–54.
36. Lipstein EA, Vorono S, Browning MF, Green NS, Kemper AR, Knapp AA, et al. Systematic Evidence Review of Newborn Screening and Treatment of Severe Combined Immunodeficiency. *Pediatrics*. 2010;125(5):e1226–35.
37. de Pagter APJ, Bredius RGM, Kuijpers TW, Tramper J, van der Burg M, van Montfrans J, et al. Overview of 15-year severe combined immunodeficiency in the Netherlands: towards newborn blood spot screening. *Eur J Pediatr*. 2015;174(9):1183–8.
38. Mazzucchelli JTL, Bonfim C, Castro GG, Costa NMX, Cunha L, Dantas EO, et al. Severe Combined Immunodeficiency in Brazil: Management , Prognosis , and BCG-Associated Complications. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2014;24(3):184–91.
39. Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Zetterström RH, King J, et al. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden — a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. *J Clin Immunol*. 2017;37(1):51–60.
40. Ministério da Saúde (Brasil). Manual de normas Técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. 90 p.
41. Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Cadernos de Atenção Básica: Rastreamento. Vol. 29. Brasília; 2010. 95 p.
42. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS). Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde - 2018. Rio de Janeiro: ANS - Agência Nacional de Saúde Suplementar; 2018. 98 p.
43. Boadmer AO. Phenylketonuria - UpToDate [Internet]. 2018 [cited 2018 Jul 16]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-phenylketonuria>
44. Ministério da Saúde (Brasil). Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas Fenilcetonúria. Brasil; 2013.
45. Wasim M, Awan FR, Khan HN, Tawab A, Iqbal M, Ayesha H. Aminoacidopathies: Prevalence, Etiology, Screening, and Treatment Options. *Biochem Genet*. 2017;Volume 56(Issue 1–2):pp 7–21.
46. Yates MA. Prenatal screening and testing for hemoglobinopathy - UpToDate [Internet]. 2018 [cited 2018 Jul 16]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/prenatal-screening-and-testing-for-hemoglobinopathy>
47. Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Deficiência de Biotinidase. Brasil; 2018. p. 15.

48. Ministério da Saúde - Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas da Fibrose Cística – Manifestações Pulmonares e Insuficiência Pancreática. Brasil; 2017. p. 24.
49. Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Hiperplasia Adrenal Congênita. Brasil. 2010. p. 18.
50. Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Hipotireoidismo Congênito. Brasil; 2015. p. 5.
51. Sutton VR. Galactosemia: Clinical features and diagnosis - UpToDate [Internet]. Uptodate. 2018 [cited 2018 Jul 16]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/galactosemia-clinical-features-and-diagnosis>
52. Camelo Junior JS, Fernandes MIM, Jorge SM, Maciel LMZ, Santos JLF, Camargo Jr. AS, et al. Avaliação econômica em saúde: triagem neonatal da galactosemia. Cad Saude Publica. 2011 Apr;27(4):666–76.
53. Sun A. Glucose-6-phosphatase deficiency (glycogen storage disease I, von Gierke disease) - UpToDate [Internet]. 2018 [cited 2018 Jul 16]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/glucose-6-phosphatase-deficiency-glycogen-storage-disease-i-von-gierke-disease>
54. Guyatt G, Rennie D. Diretrizes para utilização de literatura médica: fundamentos para a prática clínica da medicina baseada em evidências. Porto Alegre: Artmed; 2006.
55. van der Spek J, Groenwold RHH, van der Burg M, van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. J Clin Immunol. 2015;35(4):416–30.
56. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Ciência- Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: elaboração de pareceres técnico-científico. 4th ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 80 p.
57. la Marca G, Canessa C, Giocaliere E, Romano F, Duse M, Malvagia S, et al. Tandem mass spectrometry, but not T-cell receptor excision circle analysis, identifies newborns with late-onset adenosine deaminase deficiency. J Allergy Clin Immunol. 2013 Jun;131(6):1604–10.
58. Mallott J, Kwan A, Church J, Gonzalez-Espinosa D, Lorey F, Tang LF, et al. Newborn Screening for SCID Identifies Patients with Ataxia Telangiectasia. J Clin Immunol. 2013 Apr 20;33(3):540–9.
59. Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification

- using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr*. 2009;155(6):829–33.
60. Somech R, Lev A, Simon AJ, Korn D, Garty BZ, Amariglio N, et al. Newborn screening for severe T and B cell immunodeficiency in Israel: A pilot study. *Isr Med Assoc J*. 2013;15(8):404–9.
 61. Lingman Framme J, Borte S, Von Döbeln U, Hammarström L, Óskarsdóttir S. Retrospective analysis of TREC based newborn screening results and clinical phenotypes in infants with the 22q11 deletion syndrome. *J Clin Immunol*. 2014;34(4):514–9.
 62. Audrain M, Thomas C, Mirallie S, Bourgeois N, Sebille V, Rabetrano H, et al. Evaluation of the T-cell receptor excision circle assay performances for severe combined immunodeficiency neonatal screening on Guthrie cards in a French single centre study. *Clin Immunol*. 2014 Feb;150(2):137–9.
 63. Verbsky JW, Baker MW, Grossman WJ, Hintermeyer M, Dasu T, Bonacci B, et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency; The Wisconsin Experience (2008–2011). *J Clin Immunol*. 2012 Feb 10;32(1):82–8.
 64. Chien YH, Chiang SC, Chang KL, Yu HH, Lee WI, Tsai LP, et al. Incidence of severe combined immunodeficiency through newborn screening in a Chinese population. *J Formos Med Assoc*. 2012;114:12–6.
 65. Vogel BH, Weinberg GA. Newborn Screening for SCID in New York State: Experience from the First Two Years. *J Clin Immunol*. 2014;34(3):289–303.
 66. Kwan A, Church J, Cowan MJ, Agarwal R, Kapoor N, Kohn DB, et al. Newborn Screening for SCID and T Cell Lymphopenia in California: Results of the First Two Years. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(1):140–50.
 67. Adams SP, Rashid S, Premachandra T, Harvey K, Ifederu A, Wilson MC, et al. Screening of neonatal UK dried blood spots using a duplex TREC screening assay. *J Clin Immunol*. 2014;34(3):323–30.
 68. Kwan A, Abraham RS, Currier R, Brower A, Andruszewski K, Abbott J, et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in 11 Screening Programs in the United States. *JAMA*. 2014;312(7):729–38.
 69. Chien Y-H, Chiang S-C, Chang K-L, Yu H-H, Lee W-I, Tsai L-P, et al. Incidence of severe combined immunodeficiency through newborn screening in a Chinese population. *J Formos Med Assoc*. 2012 Jan;114:12–6.
 70. Routes JM, Grossman WJ, Verbsky J, Laessig RH, Hoffman GL, Brokopp CD, et al. Statewide newborn screening for severe T-cell lymphopenia. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2009;302(22):2465–70.

71. Chan K, Puck JM. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(2):391–8.
72. Lingman Framme J, Borte S, Von Döbeln U, Hammarström L, Óskarsdóttir S. Retrospective analysis of TREC based newborn screening results and clinical phenotypes in infants with the 22q11 deletion syndrome. *J Clin Immunol*. 2014 Mar 9;34(4):514–9.
73. Tagliaferri L, Kunz JB, Happich M, Esposito S, Bruckner T, Hübschmann D, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency using a novel and simplified method to measure T-cell excision circles (TREC). *Clin Immunol*. 2017;175:51–5.
74. Chien Y-H, Yu H-H, Lee N-C, Ho H-C, Kao S-M, Lu M-Y, et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in Taiwan. *Int J Neonatal Screen*. 2017;3(3):16.
75. Zetterström R, Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Winiarski J, et al. Newborn Screening for Primary Immune Deficiencies with a TREC/KREC/ACTB Triplex Assay—A Three-Year Pilot Study in Sweden. *Int J Neonatal Screen*. 2017;3(3):11.
76. Blom M, Pico-Knijnenburg I, Sijne-van Veen M, Boelen A, Bredius RGM, van der Burg M, et al. An evaluation of the TREC assay with regard to the integration of SCID screening into the Dutch newborn screening program. *Clin Immunol*. 2017;180:106–10.
77. de Felipe B, Olbrich P, Lucenas JM, Delgado-Pecellin C, Pavon-Delgado A, Marquez J, et al. Prospective neonatal screening for severe T- and B-lymphocyte deficiencies in Seville. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27(1):70–7.
78. Kwan A, Hu D, Song M, Gomes H, Brown DR, Bourque T, et al. Successful Newborn Screening for SCID in the Navajo Nation Antonia. *Clin Immunol*. 2015;158(1):29–34.
79. Nourizadeh M, Shakerian L, Borte S, Fazlollahi M, Badalzadeh M, Houshmand M, et al. Newborn screening using TREC/KREC assay for severe T and B cell lymphopenia in Iran. *Scand J Immunol*. 2018;e12699.
80. Olbrich P, De Felipe B, Delgado-Pecellin C, Rodero R, Rojas P, Aguayo J, et al. Primer estudio piloto en España sobre el cribado neonatal de las inmunodeficiencias primarias: TRECS y KRECS identifican linfopenias T y B graves. *An Pediatr*. 2014;81(5):310–7.
81. Rechavi E, Lev A, Simon AJ, Stauber T, Daas S, Saraf-Levy T, et al. First year of Israeli Newborn Screening for severe combined immunodeficiency-Clinical achievements and insights. *Front Immunol*. 2017;8(NOV):1–10.
82. Richards S, Pitt J, Choo S. Newborn screening for severe combined immunodeficiency: Evaluation of a commercial T-cell receptor excision circle-based method in Victorian dried blood spots. *J Paediatr Child Health*. 2018;54(1):14–9.
83. McGhee SA, Stiehm ER, McCabe ERB. Potential Costs and Benefits of Newborn

- Screening for Severe Combined Immunodeficiency. *J Pediatr*. 2005 Nov;147(5):603–8.
84. Chan K, Davis J, Pai S-Y, Bonilla FA, Puck JM, Apkon M. A Markov model to analyze cost-effectiveness of screening for severe combined immunodeficiency (SCID). *Mol Genet Metab*. 2011;104(3):383–9.
85. Ding Y, Thompson JD, Kobrynski L, Ojodu J, Zarbalian G, Grosse SD. Cost-Effectiveness/Cost-Benefit Analysis of Newborn Screening for Severe Combined Immune Deficiency in Washington State. *J Pediatr*. 2016 May;172:127–35.
86. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Critical appraisal: notes and checklists [Internet]. 2015. Available from: <https://www.sign.ac.uk/checklists-and-notes.html>
87. Baker MW, Grossman WJ, Laessig RH, Hoffman GL, Brokopp CD, Kurtycz DF, et al. Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Sep;124(3):522–7.
88. Baker MW, Laessig RH, Katcher ML, Routes JM, Grossman WJ, Verbsky J, et al. Implementing Routine Testing for Severe Combined Immunodeficiency within Wisconsin's Newborn Screening Program. *Public Health Rep*. 2010 May;125(2_suppl):88–95.
89. Brosco JP, Grosse SD, Ross LF. Universal state newborn screening programs can reduce health disparities. *JAMA Pediatr*. 2015 Jan;169(1):7–8.
90. Buelow BJ, Routes JM, Verbsky JW. Newborn screening for SCID: where are we now? *Expert Rev Clin Immunol*. 2014 Dec 12;10(12):1649–57.
91. Chase NM, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for T-cell deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010 Dec;10(6):521–5.
92. Chase NM, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for SCID: three years of experience. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 Nov;1238(1):99–105.
93. Comeau AM, Hale JE, Pai S-Y, Bonilla FA, Notarangelo LD, Pasternack MS, et al. Guidelines for implementation of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2010 Oct 20;33(S2):273–81.
94. Gaspar HB, Hammarström L, Mahlaoui N, Borte M, Borte S. The case for mandatory newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID). *J Clin Immunol*. 2014;34(4):393–7.
95. Grazioli S, Bennett M, Hildebrand KJ, Vallance H, Turvey SE, Junker AK. Limitation of TREC-based newborn screening for ZAP70 Severe Combined Immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2014 Jul;153(1):209–10.

96. Lodi L, Ricci S, Romano F, Ghiori F, Canessa C, Lippi F, et al. Newborn screening for PIDs using both TREC and KREC identifies late occurrence of B cells. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017;28(5):498–500.
97. Puck JM. Neonatal screening for severe combined immune deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7(6):522–7.
98. Puck JM. The case for newborn screening for severe combined immunodeficiency and related disorders. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1246(1):108–17.
99. Puck JM. Neonatal Screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Curr Opin Pediatr*. 2012;23(6):667–73.
100. Routes J, Verbsky J. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018 Jun 10;18(6):34.
101. Thakar MS, Hintermeyer MK, Gries MG, Routes JM, Verbsky JW. A practical approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency using the T cell receptor excision circle assay. *Front Immunol*. 2017;8(NOV):1–6.
102. Thomas C, Mirallié S, Audrain M, Dert C. Dépistage néonatal des déficits immunitaires combinés sévères: présentation de l'étude DEPISTREC. *Arch Pédiatrie*. 2015;22(5):73–4.
103. Verbsky J, Thakar M, Routes J. The Wisconsin approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3):622–7.
104. Vidal-Folch N, Milosevic D, Majumdar R, Gavrilov D, Matern D, Raymond K, et al. A Droplet Digital PCR Method for Severe Combined Immunodeficiency Newborn Screening. *J Mol Diagnostics*. 2017;19(5):755–65.

ANEXO 1. BASES DE DADOS PARA BUSCA DE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS

Bases de Dados	Endereço	Acesso
<i>Cochrane Library</i>	www.thecochranelibrary.com	LIVRE
PubMed	www.pubmed.gov	LIVRE
LILACS	www.bireme.br	LIVRE
CRD	www.york.ac.uk/inst/crd	LIVRE

CRD: *Centre for Reviews and Dissemination*; LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde.

**ANEXO 2. NÍVEIS DE EVIDÊNCIA CIENTÍFICA SEGUNDO A CLASSIFICAÇÃO
DE OXFORD CENTER FOR EVIDENCE-BASED MEDICINE (TESTES DE
DIAGNÓSTICO)**

Nível de Evidência	Estudos de Tratamento
1	Revisão sistemática de estudos transversais com padrão de referência aplicado de forma consistente e cegamento
2	Estudos transversais individuais com padrão de referência aplicado de forma consistente e cegamento
3	Estudos não-consecutivos ou estudos sem padrão de referência aplicado de forma consistente
4	Estudos de caso e controle diagnósticos ou “padrão de referência pobre ou não independente”
5	Racional baseado no mecanismo

Fonte: <https://www.cebm.net/wp-content/uploads/2014/06/CEBM-Levels-of-Evidence-2.1.pdf>

ANEXO 3. FICHAS DE AVALIAÇÃO CRÍTICA DOS ESTUDOS ANALISADOS

Os estudos incluídos na revisão foram analisados com base em parâmetros de qualidade conforme descrito nas tabelas abaixo, de acordo com as recomendações das Diretrizes Metodológicas para Elaboração de Pareceres Técnico-Científicos do Ministério da Saúde, utilizando as fichas específicas para Revisão Sistemática e Estudos de rastreamento.(56)

Formulário de avaliação de qualidade de revisões sistemáticas da literatura (com ou sem metanálise).

Parâmetros	Van de Spek <i>et al</i> 2015
1. Um projeto foi definido a priori?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
2. Foi possível replicar a seleção e a extração de dados do estudo?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
3. Foi realizada uma pesquisa abrangente na literatura?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
4. O status de publicação (por exemplo, literatura cinzenta) foi usado como um dos critérios de inclusão?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
5. Foi apresentada uma lista de estudos (incluídos e excluídos)?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não (apenas incluídos) <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
6. Foram apresentadas as características dos estudos incluídos?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
7. A qualidade dos estudos incluídos foi utilizada adequadamente na formulação das conclusões?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
8. Os métodos utilizados para combinar os resultados de estudos foram apropriados?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input checked="" type="checkbox"/> Não se aplica
9. A possibilidade de vieses de publicação foi avaliada?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica
10. Foram declarados os conflitos de interesses?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sem informações que permitam avaliação <input type="checkbox"/> Não se aplica

Fonte: SIGN – < <http://www.sign.ac.uk/methodology/checklists.html> (86)

Formulário de avaliação de qualidade de estudos diagnósticos

Parâmetros	Barbaro <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Blom <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	De Felipe <i>et al</i> 2016
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Parâmetros	De Felipe <i>et al</i> 2016
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Kanegae <i>et al</i> 2016
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Kanegae <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Kwan <i>et al</i> 2015
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim

Parâmetros	Kwan <i>et al</i> 2015
	() Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Nourizade <i>et al</i> 2018
	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Olbrich <i>et al</i> 2014
	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Rechavi <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Richards <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são aplicáveis ao contexto de interesse?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
6. Os resultados são relevantes?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

Parâmetros	Tagliaferri <i>et al</i> 2017
1. A seleção dos pacientes foi adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
2. Trata-se de um estudo corretamente delineado?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
3. O padrão-ouro foi definido de uma forma adequada?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
4. O teste índice (em investigação) foi definido apropriadamente?	(X) Sim () Não () Sem informações que permitam avaliação
5. Os participantes, o padrão-ouro e o teste índice, são	(X) Sim

Parâmetros	Tagliaferri <i>et al</i> 2017
aplicáveis ao contexto de interesse?	() Não () Sem informações que permitam avaliação (X) Sim
6. Os resultados são relevantes?	() Não () Sem informações que permitam avaliação

Fonte: (Adaptado de OLIVEIRA; GOMES; TOSCANO, 2011)

ANEXO 4. ESTUDOS EXCLUÍDOS

Durante leitura do título ou resumo, todos os estudos que não se enquadravam nos critérios de elegibilidade foram excluídos. Os motivos para exclusão dos estudos lidos na íntegra estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Motivos de exclusão de artigos lidos na íntegra.

Autor	Ano	Referência	Motivo da Exclusão
Adams <i>et al</i>	2014	(67)	Duplicata de Van Der Spek 2015
Baker <i>et al</i>	2009	(87)	Duplicata de Baker 2010
Baker <i>et al</i>	2010	(88)	Duplicata com Kwan 2014
Borte <i>et al</i>	2012	(21)	Duplicata com Van Der Spek 2015
Borte <i>et al</i>	2013	(35)	Diretriz
Brosco <i>et al</i>	2015	(89)	Carta
Buelow <i>et al</i>	2014	(90)	Revisão Narrativa
Buelow <i>et al</i>	2016	(9)	Revisão Narrativa
Chan <i>et al</i>	2005	(71)	Estudo de simulação para testagem do método
Chase <i>et al</i>	2010	(91)	Revisão Narrativa
Chase <i>et al</i>	2011	(92)	Revisão Narrativa
Chiarini <i>et al</i>	2013	(1)	Revisão Narrativa
Comeau <i>et al</i>	2010	(93)	Diretrizes
Gaspar <i>et al</i>	2014	(94)	Revisão Narrativa
Grazioli <i>et al</i>	2014	(95)	Carta
King <i>et al</i>	2018	(22)	Revisão Narrativa
Kwan <i>et al</i>	2015	(4)	Revisão Narrativa
Kwan <i>et al</i>	2013	(66)	Duplicata com Van Der Spek 2015
Kwan <i>et al</i>	2014	(68)	Duplicata com Van Der Spek
Lodi <i>et al</i>	2017	(96)	Carta
Madkaikar <i>et al</i>	2016	(24)	Diretrizes
Morinishi <i>et al</i>	2009	(59)	Duplicata de Van Der Spek 2015
Nakagawa <i>et al</i>	2011	(23)	Carta
Puck	2007	(97)	Revisão Narrativa
Puck	2011	(98)	Duplicata com Kwan 2014
Puck	2011	(99)	Duplicata com Kwan 2014
Puck	2012	(19)	Revisão Narrativa
Routes <i>et al</i>	2009	(70)	Duplicata com Kwan 2014
Routes <i>et al</i>	2018	(100)	Revisão Narrativa
Somech <i>et al</i>	2013	(60)	Duplicata de Van Der Spek 2015
Thakar <i>et al</i>	2017	(101)	Revisão Narrativa Sobre Tratamento
Thomas <i>et al</i>	2015	(102)	Não é estudo
Verbsky <i>et al</i>	2012	(103)	Duplicata com Van Der Spek 2015
Vidal Folch <i>et al</i>	2017	(104)	Outro método que não PCR
Vogel <i>et al</i>	2014	(65)	Duplicata com Kwan 2014