

**DECLARAÇÃO**

**Declara estar ciente que o preenchimento dos campos obrigatórios do FormRol, bem como o envio dos documentos obrigatórios, são requisitos para análise de elegibilidade da proposta de atualização do Rol?**

Sim

**Declara estar ciente que o preenchimento do FormRol com conteúdo inespecífico, pouco abrangente ou incompatível com as perguntas formuladas poderá trazer prejuízo para análise de elegibilidade da proposta de atualização do Rol?**

Sim

**Declara estar ciente que os documentos de envio obrigatório deverão ser elaborados em conformidade com o disposto nos incisos XII a XIV do art. 9º da RN nº 439/2018?**

Sim

**Declara estar ciente que é obrigatório o envio dos textos completos das evidências científicas referenciadas no parecer técnico-científico - PTC/revisão sistemática?**

Sim

**Declara que as informações prestadas neste formulário eletrônico são verdadeiras?**

Sim

**BLOCO I - IDENTIFICAÇÃO DO PROPONENTE****Proponente:**

Pessoa Jurídica

**CNPJ :**

47.874.219/0001-83

**Razão social :**

Associação Brasileira de Alergia e Imunologia

**E-mail da pessoa jurídica:**

administracao@asbai.org.br

**Telefone da pessoa jurídica :**

(11) 5575-6888

**Endereço da pessoa jurídica :**

Avenida Professor Ascendino Reis, 455

**Cidade da pessoa jurídica:**

São Paulo

**Unidade Federativa (UF) da pessoa jurídica:**

SP

**CEP da pessoa jurídica:**

04027-000

**Representação no âmbito do COSAÚDE:**

Conselho ou Associação de profissionais de saúde

**Conselho/Associação profissional:**

Medicina

**CPF do responsável pelo preenchimento da proposta de atualização do Rol:**

46375180759

**Nome completo do responsável pelo preenchimento da proposta de atualização do Rol :**

Norma de Paula Motta Rubini

**E-mail para contato com o responsável pelo preenchimento da proposta de atualização do Rol:**

norma.rubini@gmail.com

**Telefone para contato com o responsável pelo preenchimento da proposta de atualização do Rol:**

(21) 9961-11764

**Formação profissional do responsável pelo preenchimento da proposta de atualização do Rol :**

médico

**Declaro que me foram outorgados poderes para  
submeter a presente proposta em nome do  
proponente pessoa jurídica:** Sim

**BLOCO II - PROPOSTA DE ATUALIZAÇÃO DO ROL****Nome da tecnologia em saúde objeto da proposta de atualização do Rol:**

Quantificação de TRECs e KRECs

**Tipo de proposta de atualização do Rol:**

Incorporação de nova tecnologia em saúde no Rol

**Justifique o porquê da proposta de atualização do Rol:**

As imunodeficiências primárias, em particular a imunodeficiência combinada grave (SCID) 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 (círculos de excisão do receptor de células T, do inglês, T-cell receptor excision circles) e KRECs (círculos de excisão de recombinação de deleção de kappa (do inglês kappa-deleting recombination circles) 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.

O benefício mais pronunciado do rastreamento da SCID e agamaglobulinemia durante o período neonatal é a implementação do tratamento precoce. No caso da SCID, o transplante de células tronco hematopoéticas precocemente, antes dos 3,5 meses, ou ainda no período neonatal, aumenta a sobrevida dos pacientes, com potencial curativo. Para agamaglobulinemia, há benefícios na redução de infecções invasivas e sistêmicas, bem como complicações de longo prazo, quando o diagnóstico é feito precocemente e a terapia de reposição com imunoglobulinas é iniciada.

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.

Dessa forma, este parecer técnico-científico propõe a adoção da 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 a SCID e a agamaglobulinemia.

**Apresente a proposta de atualização do Rol, especificando a indicação de uso da tecnologia em saúde no âmbito da Saúde Suplementar:**

Adoção da quantificação de TRECs e KRECs no âmbito da triagem neonatal de rotina (teste do pezinho) no Sistema de Saúde Suplementar está sendo proposta com o objetivo de diagnosticar precocemente a imunodeficiência combinada grave (SCID) e a agamaglobulinemia.

**BLOCO III - PROBLEMA DE SAÚDE****Descrição da doença/condição de saúde relacionada a proposta de atualização do Rol:**

Dentro das desordens de imunodeficiências primárias (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.

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. 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. 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 geralmente desenvolvem os primeiros sintomas entre 3 e 9 meses de idade. 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. São também atipicamente susceptíveis a infecções virais entéricas. 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).

#### **Diagnóstico - Padrão ouro para o diagnóstico da doença/condição de saúde:**

Na prática clínica atual, considerando a indisponibilidade do teste que ainda não foi implementado como rotina no rastreamento neonatal, o diagnóstico se dá majoritariamente a partir do aparecimento dos primeiros quadros infecciosos típicos das imunodeficiências primárias (IDPs), que levam à suspeita diagnóstica que é usualmente investigada a partir da história familiar de uma IDP, anamnese buscando manifestações clínicas típicas, 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 imunodeficiência combinada grave (SCID) e agamaglobulinemia.

#### **Tratamento - Conjunto de intervenções em saúde atualmente utilizado no manejo da doença/condição de saúde:**

Para as imunodeficiências combinadas graves (SCID), os tratamentos curativos como o transplante de células-tronco hematopoéticas e a terapia gênica podem melhorar a sobrevida de um paciente quando o tratamento pode ser iniciado antes que ocorram infecções graves. Diversas medidas são recomendadas, como rastreamento de patógenos, manutenção da criança em cubículos fechados com medidas de isolamento, utilização de antibióticos e antifúngicos profiláticos e administração de imunoglobulina de substituição. 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 e hepatites. O tratamento da agamaglobulinemia envolve reposição por toda a vida de IgG, seja subcutânea ou intravenosa, e o uso criterioso de antibiótico profilático.

#### **Prognóstico da doença/condição de saúde:**

Crianças que apresentam Imunodeficiências Combinadas Graves (SCID) e não são diagnosticadas precocemente têm sobrevida muito 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. 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 transplante de células tronco hematopoéticas, quando este é realizado antes dos 3,5 meses de idade.

Crianças com XLA geralmente desenvolvem os primeiros sintomas entre 3 e 9 meses de idade. A principal característica são as infecções bacterianas recorrentes 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. 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.

#### **Qual a incidência da doença/condição de saúde por 100.000 habitantes?**

A quantificação de TRECs e KRECs será aplicada no âmbito da triagem neonatal de rotina (teste do pezinho). Desta forma, a população incidente é formada por todos os recém-nascidos vivos sob os cuidados do Sistema de Saúde Suplementar.

#### **Qual a prevalência da doença/condição de saúde por 100.000 habitantes?**

Não se aplica

#### **Qual a taxa de mortalidade da doença/condição de saúde por 100.000 habitantes?**

Não se aplica

#### **População-alvo**

Delimitar a população-alvo para a tecnologia em saúde em proposição.

**A população-alvo para a utilização da tecnologia em proposição é composta por um grupo específico da população de pacientes com a doença/condição de saúde?**

Não, a população alvo é formada por todos os pacientes com a doença/condição de saúde.

#### População-alvo - Estimativas anuais

Considerando a população-alvo e na perspectiva da Saúde Suplementar, fornecer uma estimativa anual quanto ao número de indivíduos que poderá utilizar a tecnologia nos primeiros cinco anos.

**1º ano:**

658703

**2º ano:**

651340

**3º ano:**

644117

**4º ano:**

636915

**5º ano:**

658703

#### Referências Bibliográficas

**Referências bibliográficas completas utilizadas para citação dos dados epidemiológicos da doença/condição de saúde, bem como para delimitação da população-alvo (quando possível, incluir identificador de objeto digital - DOI/link para acesso web):**

Incidência: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Projeções da População [Internet]. 2018. Available from: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao/9109-projecao-da-populacao.html?=&t=o-que-e>

Prevalência: não se aplica

Mortalidade: não se aplica

#### BLOCO IV - TECNOLOGIA EM SAÚDE

**Tipo de tecnologia em saúde:**

Procedimento Diagnóstico/Terapêutico

**Categorização da tecnologia em saúde:**

Inovação tecnológica

**Natureza da tecnologia :**

Diagnóstico

**Âmbito assistencial:**

Ambulatorial  
Hospitalar

**Caracterização da tecnologia em relação à(s) existente(s) no Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde vigente:**

Até o momento não há tecnologia existente no Rol para a indicação proposta

**O procedimento está listado em uma tabela profissional?**

Sim

**Especificar tabela profissional:**

CBHPM

**Nome do procedimento em tabela profissional:**

Quantificação de TRECs e KRECs

**Código do procedimento em tabela profissional:**

4.03.14.00-6

**O procedimento está listado na Terminologia Unificada da Saúde Suplementar - TUSS?**

Não

**O procedimento já está contemplado no Rol?**

Não

**Nome do procedimento em língua inglesa :**

quantification of T-cell receptor excision circles (TRECs) and K-deleting recombination excision circles (KRECs)

**Apresentar descrição técnica detalhada do procedimento:**

A imunodeficiência combinada grave (SCID) e a 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). 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.

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.

Contagem de TREC - 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.

Contagem de KREC - Consiste na quantificação de KRECs, que são peças circulares, episomais de DNA, produzidas durante a recombinação V(D)J dentro do locus IGH 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.

**Descrever os impactos da tecnologia, em termos de benefícios clínicos, para a morbimortalidade e para qualidade de vida associada a doença/condição de saúde:**

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.

**Descrever os eventos adversos associados a realização do procedimento, a gravidade destes eventos e a frequência com que ocorrem:**

Não se aplica

**O procedimento contempla a utilização de OPME (Órteses, Próteses e Materiais Especiais) relacionada ao ato cirúrgico?**

Não

**É necessária a realização de anestesia para a execução do procedimento? :**

Não

**Existe a necessidade de outras tecnologias de apoio (diagnóstico ou terapêutico) para execução da tecnologia proposta?**

Não

**Considerando a indicação proposta para a tecnologia, quanto a avaliação pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS - CONITEC:**

A tecnologia não foi submetida a avaliação da CONITEC

**A tecnologia em proposição está contemplada em um PCDT do Ministério da Saúde?**

Não

**A tecnologia em proposição está contemplada no SIGTAP?**

Não

**No âmbito da Saúde Suplementar, a tecnologia em proposição demanda o estabelecimento de uma DUT ou a alteração de uma DUT já existente (caso o procedimento já esteja contemplado no Rol)?**

Não

#### **BLOCO V - TECNOLOGIA ALTERNATIVA (COMPARADOR)**

**O Rol de Procedimentos possui uma ou mais tecnologias alternativas a tecnologia em saúde em proposição?**

Não

#### **BLOCO VI - EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS**

**Anexar parecer técnico-científico - PTC/revisão sistemática - ENVIO OBRIGATÓRIO:**

[Download](#)

#### **Pergunta de Pesquisa**

Apresentação da estratégia PICO formulada para busca das evidências científicas incluídas no parecer técnico-científico – PTC/revisão sistemática.

##### **Definir a População:**

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

##### **Definir a Intervenção:**

Rastreamento para imunodeficiência combinada grave (SCID) e agamaglobulinemia através do teste de quantificação TREC e KREC.

##### **Definir o Comparador:**

Ausência de rastreamento para as referidas doenças.

##### **Definir o Desfecho (Outcome):**

Deteção de SCID e agamaglobulinemia.

#### **Textos completos**

Anexar somente um documento em cada caixa de seleção. Tamanho máximo do arquivo em cada caixa: 1 mb.

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

[Download](#)

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

[Download](#)

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

[Download](#)

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

[Download](#)

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

[Download](#)

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download**

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download**

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download**

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download**

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download**

**Texto completo de evidência científica referenciada no PTC/Revisão sistemática:**

**Download****BLOCO VII - DADOS ECONÔMICOS**

**Qual tipo de estudo de avaliação econômica em saúde (AES) foi realizado?**

Custo-benefício

**Anexar estudo de avaliação econômica em saúde (AES) - ENVIO OBRIGATÓRIO:**

**Download**

**Anexar análise de impacto orçamentário (AIO) - ENVIO OBRIGATÓRIO:**

**Download****BLOCO VIII - CAPACIDADE INSTALADA**

**Na perspectiva da saúde suplementar, a tecnologia está disponível em âmbito nacional?**

Sim

**Justifique, na perspectiva da saúde suplementar, a afirmação quanto a disponibilidade da tecnologia em âmbito nacional:**

Sim, Existem cerca de 16.000 laboratórios instalados no Brasil, aptos a coletar e executar o exame. O fato do exame ser coletado em papel de filtro e mantido a temperatura ambiente, também facilita muito a logística de envio, caso os laboratórios coletores prefiram terceirizar os serviços.

**Que profissionais precisam estar envolvidos na execução do procedimento?**

Médicos ou biólogos ou biomédicos ou bioquímicos farmacêuticos, técnicos e auxiliares de laboratório.

**O procedimento requer capacitação/habilitação profissional específica para sua execução?**

Sim

**Especificar a capacitação/habilitação profissional necessária para execução do procedimento:**

Médicos ou biólogos ou biomédicos ou bioquímicos farmacêuticos, técnicos e auxiliares de laboratório com capacitação em exames de biologia molecular.

**Que tipos de estabelecimentos de saúde possuem a estrutura física e/ou a habilitação necessárias para execução do procedimento?**

Laboratórios de análises clínicas e de medicina diagnóstica.

**Descreva a estrutura física e especifique, citando o número de registro na ANVISA, os equipamentos, insumos e demais produtos para saúde necessários para execução do procedimento:**

Os procedimentos devem ser realizados em laboratório próprio para biologia molecular, composto por sala de preparo de soluções e extração de ácidos nucleicos, antecâmara de paramentação, sala de pré-PCR (sala limpa) e sala de PCR (amplificação), dentro da categoria de Prestação de Serviços de Saúde – Laboratório Clínico – Análises Clínicas e Patologia Clínica, de acordo com os requisitos da resolução RDC 50 / 2002, com nível de biossegurança 1 (NB1). O método foi desenvolvido e validado in house (Kanegae et al., 2016; Kanegae et al., 2017; Meehan et al., 2018). Na sala de extração e preparo de soluções e reagentes é realizada a primeira etapa do processo, que é a extração do DNA a partir de sangue seco em papel filtro. São picotados discos de 3,2 mm de diâmetro, que são manuseados com uma pinça metálica e adicionados a uma placa de polipropileno de 96 poços, onde é realizado o procedimento de purificação e posterior eluição do DNA do papel filtro, utilizando-se os reagentes Generation DNA Purification Solution 1



e Generation DNA Elution Solution 2 (QIAGEN); para a eluição é utilizado termociclador SimpliAmp (Thermo Fisher). Os materiais necessários são picotador com diâmetro do picote de 3,2 mm, pinça metálica, placa de polipropileno de 96 poços com volume de 300 µl, adesivo selante da placa de 96 poços, ponteiras estéreis de 200 µl, pipeta multicanal de 200 µl, centrífuga de bancada que atinja 1400g (sem necessidade de refrigeração) e termociclador.

Após eluição, a placa com DNA extraído, não amplificado, segue para a sala de pré-PCR onde será montada a placa de reação de qPCR, e após a montagem e selagem da placa, seguirá para sala de PCR onde está localizado equipamento de PCR em tempo real QuantStudio3 (Thermo Fisher). O DNA é amplificado em uma reação duplex de qRT-PCR para TRECs e KRECs em volume final de 20µL, utilizando-se 8 µl de amostra, 1X de master mix do Taqman FAST Advanced (Thermo Fisher), e primers e sondas descritos por Sottini et al. (2010): TREC primer forward CACATCCCTTTCAACCATGCT, reverse TGCAGGTGCCTATGCATCA e sonda ACACCTCTGGTTTTGTAAAGGTGCCCACT e KREC primer forward TCCCTTAGTGGCATTATTTGTATCACT, reverse AGGAGCCAGCTCTTACCCTAGAGT e sonda TCTGCACGGGACAGGTTGG. concentração final dos primers para TRECs e KRECs foram, respectivamente, 300nM e 600nM e as sondas foram utilizadas na concentração de 200nM. A amplificação do controle endógeno (β-actina, ACTB) é realizada posteriormente, somente para amostras que apresentaram TRECs e/ou KRECs abaixo do valor de corte, com primers e sonda descritos por Baker et al. (200X): primer forward ATTTCCCTCTCAGGCATGGA, reverse CGTCACACTTCATGATGGAGTTG, sonda GTGGCATCCACGAAACTA, nas concentrações finais de 250nM (primers) e 150nM (sonda), também em reação de 20µL, porém usando apenas 1µL de amostra; o volume da reação deve ser completado com água ultrapura caso necessário. As concentrações das moléculas de TREC, KREC e ACTB são calculadas utilizando-se uma curva-padrão construída por meio da diluição de plasmídeos contendo as sequências específicas descritas por Sottini et al. (2010). A reação de PCR segue o padrão FAST para aparelhos de qPCR. Para essa etapa do procedimento, são necessários fluxo laminar para montagem do mix do PCR, vortex para tubos e placas, placa óptica de propileno de 96 poços com volume de 100 µl específica para qPCR, adesivo óptico selante da placa de 96 poços, pipetas de 1000 µl, 200 µl, 20 µl, 10 µl e 2 µl e ponteiras estéreis de 1000 µl, 200 µl e 10 µl, microtubos estéreis de 1500 µl (ou 2000 µl), 600 µl e 200 µl.

Para determinar se uma amostra se encontra dentro dos parâmetros normais, utilizamos um valor de corte para TRECs de 25 cópias/µL e KRECs de 20 cópias/µL. Quando a amostra apresenta valores abaixo dessa concentração na primeira análise, repetimos todo o processo de extração e amplificação, juntamente com a quantificação de ACTB. Após essa segunda etapa, nos casos em que TRECs e/ou KRECs se mantêm abaixo do normal, com ACTB acima de 8.000 cópias/µL, os pacientes são contatados e pode ser pedida nova coleta de amostra, ou o paciente pode ser referenciado diretamente para imunologista pediátrico para avaliação e realização de exames confirmatórios (imunofenotipagem de linfócitos e subpopulações de memória), dependendo da análise de cada caso.

#### Referências bibliográficas

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* [Internet]. Elsevier Ltd; 124(3):522–7.

Douek DC, Vescio RA, Betts MR, Brenchley JM, Hill BJ, Zhang L, et al. Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. *Lancet*. 2000; 355(9218): 1875-81.

Kanegae MPP, Barreiros LA, Mazzucchelli JTL, Hadachi SM, Guilhoto LMFF, Acquesta AL, et al. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil. *J Pediatr* (Rio). 2016; 92: 374-80.

Kanegae MPP, Barreiros LA, Sousa JL, Brito MAS., Oliveira-Junior EB, Soares LP et al. Newborn screening for Severe combined immunodeficiencies using TRECs and KRECs: second pilot study in Brazil. *Rev. paul. pediatr*. 2017; 35(1):25-32.

Meehan C, Bonfim C, Dasso JF, Costa-Carvalho BT, Condino-Neto A, Walter J. in time: the value and global implications of newborn screening for Severe Combined Immunodeficiency. *Rev. paul. pediatr*. 2018. 36(4):388-397.

Sottini, A, Ghidini C, Zanotti C, Chiarini M, Caimi L, Lanfranchi A, et al. Simultaneous quantification of recent thymic T-cell and bone marrow B-cell emigrants in patients with primary immunodeficiency undergone to stem cell transplantation. *Clin Immunol*. 2010; 136(2): 217-27.

#### Estabelecimentos de saúde

Fornecer, na perspectiva da saúde suplementar, o número de estabelecimentos de saúde, por UF, com a estrutura física e os equipamentos necessários a operacionalização da tecnologia em saúde em proposição. Caso para algum campo não possua a informação, por favor, escrever "Sem informação".

<b>Acre - AC:</b>	59
<b>Alagoas - AL:</b>	246
<b>Amapá- AP:</b>	55
<b>Amazonas - AM:</b>	132
<b>Bahia - BA:</b>	1283
<b>Ceará - CE:</b>	439
<b>Distrito Federal - DF:</b>	248
<b>Espírito Santo - ES:</b>	686
<b>Goiás - GO:</b>	1059
<b>Maranhão - MA:</b>	494
<b>Mato Grosso - MT:</b>	627
<b>Mato Grosso do Sul - MS:</b>	418



<b>Minas Gerais - MG:</b>	3555
<b>Pará - PA:</b>	484
<b>Paraíba - PB:</b>	588
<b>Paraná - PR:</b>	2222
<b>Pernambuco - PE:</b>	730
<b>Piauí - PI:</b>	436
<b>Rio de Janeiro - RJ:</b>	2090
<b>Rio Grande do Norte - RN:</b>	339
<b>Rio Grande do Sul - RS:</b>	2515
<b>Rondônia - RO:</b>	308
<b>Roraima - RR:</b>	29
<b>Santa Catarina - SC:</b>	1339
<b>São Paulo - SP:</b>	4598
<b>Sergipe - SE:</b>	168
<b>Tocantins - TO :</b>	244

**Quais foram as fontes de informação utilizadas para estabelecer o nº de estabelecimentos de saúde com a estrutura física e os equipamentos necessários para a execução do procedimento em âmbito nacional?**

Ministério da Saúde - Cadastro Nacional dos Estabelecimentos de Saúde do Brasil - CNES  
(<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?cnes/cnv/estabbr.def>).

#### Profissionais de saúde

Fornecer, na perspectiva da saúde suplementar, o número de profissionais de saúde, por UF, habilitados/capacitados a operacionalização da tecnologia em saúde em proposição. Caso para algum campo não possua a informação, por favor, escrever "Sem informação".

<b>Acre - AC:</b>	45
<b>Alagoas - AL:</b>	168
<b>Amapá - AP:</b>	22
<b>Amazonas - AM:</b>	187
<b>Bahia - BA:</b>	606
<b>Ceará - CE:</b>	276
<b>Distrito Federal - DF:</b>	690
<b>Espírito Santo - ES:</b>	602
<b>Goiás - GO:</b>	295
<b>Maranhão - MA:</b>	150
<b>Mato Grosso - MT:</b>	219
<b>Mato Grosso do Sul - MS:</b>	95
<b>Minas Gerais - MG:</b>	1724
<b>Pará - PA:</b>	139
<b>Paraíba - PB:</b>	64
<b>Paraná - PR:</b>	428
<b>Pernambuco - PE:</b>	512
<b>Piauí - PI:</b>	51
<b>Rio de Janeiro - RJ:</b>	1776
<b>Rio Grande do Norte - RN:</b>	129
<b>Rio Grande do Sul - RS:</b>	498

<b>Rondônia - RO:</b>	74
<b>Roraima - RR:</b>	31
<b>Santa Catarina - SC:</b>	310
<b>São Paulo - SP:</b>	3177
<b>Sergipe - SE:</b>	70
<b>Tocantins - TO:</b>	56

**Quais foram as fontes de informação utilizadas para estabelecer o nº de profissionais habilitados/capacitados para execução do procedimento em âmbito nacional?**

TabNet – Técnico e auxiliar de laboratório que não atendem pelo SUS em fevereiro de 2019  
(<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?cnes/cnv/prid02br.def>).

**Criação :** 29/04/2019 09:19:52

**Atualização :** 29/04/2019 10:25:55

#### Enviar por Email

Caso queira enviar essa ficha por email preencha o nome e email do destinatário.

Nome:*	<input type="text"/>	Texto:	<input type="text"/>
Email:*	<input type="text"/>		



Enviar Email