



**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
CURSO DE MEDICINA**

LUIZA CAVALCANTE FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO OPERACIONAL DA TRIAGEM NEONATAL
PARA DOENÇA DO XAROPE DE BORDO (DXB) NO ESTADO DA BAHIA:
ESTUDO DE BASE POPULACIONAL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SALVADOR
2024**

LUIZA CAVALCANTE FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO OPERACIONAL DA TRIAGEM NEONATAL
PARA DOENÇA DO XAROPE DE BORDO (DXB) NO ESTADO DA BAHIA:
ESTUDO DE BASE POPULACIONAL**

Projeto do trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina da Escola Bahiana de Medicina
e Saúde Pública.

Orientador: Ney Boa Sorte

Co-orientadora: Tatiana Amorim

**SALVADOR
2024**

RESUMO

INTRODUÇÃO: A Doença da Urina de Xarope de Bordo (DXB) é um erro inato do metabolismo de herança autossômica recessiva, proveniente da deficiência do complexo enzimático alfa-cetoácido-desidrogenase de cadeia ramificada. Essa alteração resulta em um processo de intoxicação dos tecidos musculoesquelético e neural, levando a graves desfechos clínicos. Assim, a triagem neonatal (TN) possui papel primordial no prognóstico dessas crianças, possibilitando o diagnóstico precoce e tratamento em tempo hábil. **OBJETIVO:** Avaliar o desempenho operacional do programa de TN para Doença do Xarope de Bordo (DXB) do estado da Bahia, entre os anos de 2011 e 2022. **METODOLOGIA:** Estudo de série temporal, de base populacional para avaliação do sistema de coleta, processamento, identificação de casos suspeitos e confirmação diagnóstica do programa de TN para DXB na Bahia. O estudo foi conduzido no Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) da Bahia, a APAE Salvador, responsável por todo o processo de triagem, confirmação diagnóstica e acompanhamento ambulatorial dos casos. Todas as crianças que foram submetidas a TN para DXB no período de 2011 a 2022 na Bahia correspondem a população do estudo. Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva. **RESULTADOS:** No período avaliado, 2.050.387 crianças foram submetidas a TN na Bahia para a DXB, representando uma cobertura global de 85,7%. Em relação a incidência de casos triados positivos, observou-se uma média de incremento anual de 3,0 casos/ano. Observou-se a queda da mediana da idade de coleta do teste do pezinho de 9,0 dias para 6,0 dias. Houve um aumento significativo do percentual da coleta realizada na idade preconizada, entre 3 e 5 dias, de 18,1% para 39,6%. O tempo para a liberação do resultado pelo SRTN foi o indicador de melhor evolução no período avaliado, com aumento médio anual de 5,1% ao ano de disponibilização em até 2 dias após a chegada da amostra no laboratório. O tempo de retenção da amostra praticamente não oscilou desde 2015, com mediana (p25 – p75) de 10,0 (7,0 – 15,0) dias, com uma queda média de 2,3% ao ano. Dos 2.050.387 nascidos vivos triados, 273 crianças tiveram a primeira amostra descrita como alterada para a presença de alteração de leucina/isoleucina. Dessas, 50 apresentaram resultado acima de 381,0 $\mu\text{mol/L}$ na amostra dosada pelo kit NeoLISA[®] MSUD e tiveram diagnóstico confirmado para DXB pelo exame HPLC, MS/MS ou Painel de Leucinose, ou vieram a óbito antes da confirmação da aminoacidopatia, mas com quadro clínico compatível, indicando diagnóstico provável. **CONCLUSÃO:** O presente estudo demonstrou que o indicador de melhor evolução no período foi o tempo de processamento da amostra e a liberação do resultado, e que ainda é necessário melhorar o tempo de retenção da amostra pelas unidades coletadoras do teste. Assim, existem indicadores operacionais a serem melhorados para otimizar as etapas da TN, como a coleta na idade adequada, entre 3 e 5 dias.

Palavras-chave: Doença do Xarope de Bordo. Erros Inatos do Metabolismo. Triagem Neonatal. Doenças Raras.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Maple Syrup Urine Disease (MSUD) is an inborn error of metabolism with an autosomal recessive inheritance pattern, resulting from a deficiency in the branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex. This alteration leads to a process of intoxication of musculoskeletal and neural tissues, resulting in severe clinical outcomes. Therefore, neonatal screening (NS) plays a crucial role in the prognosis of these children, enabling early diagnosis and timely treatment. **OBJECTIVE:** To evaluate the operational performance of the NS program for Maple Syrup Urine Disease (MSUD) in the state of Bahia, Brazil, between 2011 and 2022. **METHODS:** A population-based time series study to evaluate the collection, processing, identification of suspected cases, and diagnostic confirmation system of the NS program for MSUD in Bahia. The study was conducted at the Neonatal Screening Reference Service (SRTN) of Bahia, APAE Salvador, responsible for the entire screening process, diagnostic confirmation, and outpatient follow-up of cases. All children who underwent NS for MSUD from 2011 to 2022 in Bahia were included in the study population. Data were analyzed using descriptive statistics. **RESULTS:** During the study period, 2,050,387 children were screened in Bahia for MSUD, representing a global coverage of 85.7%. Regarding the incidence of positive screened cases, there was an average annual increase of 3.0 cases/year. There was a decrease in the median age of blood spot collection from 9.0 days to 6.0 days. There was a significant increase in the percentage of blood spot collection performed at the recommended age, between 3 and 5 days, from 18.1% to 39.6%. The time for result release by the SRTN was the indicator with the best evolution in the evaluated period, with an average annual increase of 5.1% in availability within 2 days after sample arrival at the laboratory. The sample retention time has practically not fluctuated since 2015, with a median (p25 - p75) of 10.0 (7.0 - 15.0) days, with an average decrease of 2.3% per year. Of the 2,050,387 live births screened, 273 children had their first sample described as altered for the presence of leucine/isoleucine alteration. Of these, 50 had a result above 381.0 $\mu\text{mol/L}$ in the sample tested by the MSUD NeoLISA[®] kit and were diagnosed with MSUD by HPLC, MS/MS, or Leucinosi Panel examination, or died before confirmation of the amino acidopathy, but with a compatible clinical picture, indicating a probable diagnosis. **CONCLUSION:** This study demonstrated that the indicator with the best evolution in the period was the sample processing time and result release, and that there is still a need to improve the sample retention time by the collecting units of the test. Thus, there are operational indicators to be improved to optimize the NS steps, such as collection at the appropriate age, between 3 and 5 days.

Keywords: Maple Syrup Urine Disease. Inborn Errors of Metabolism. Neonatal Screening. Rare Diseases.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVO	7
2.1 Geral	7
2.2 Específicos	7
3. REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1 Doença do Xarope de Bordo	8
3.2 Triagem Neonatal	10
4. MÉTODOS	13
4.1 Desenho de estudo	13
4.2 Local e população alvo do estudo	13
4.3 Critérios de inclusão e exclusão	13
4.4 Operacionalização e procedimentos de Coleta de Dados	13
4.5 Operacionalização das Variáveis e Análise dos Dados	14
4.6 Aspectos bioéticos	14
5. RESULTADOS	15
6. DISCUSSÃO	19
7. CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
ANEXO A	26

1. INTRODUÇÃO

A Doença da Urina de Xarope de Bordo (DXB), também conhecida como leucinose, é uma patologia congênita caracterizada por um erro inato do metabolismo de herança autossômica recessiva, proveniente da deficiência do complexo enzimático alfa-cetoácido-desidrogenase de cadeia ramificada (BCKDH). Esse complexo enzimático é responsável pela etapa de desidrogenação no metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada, a valina, leucina e isoleucina.^{1,2} Em pacientes portadores da DXB, anomalias envolvendo uma ou mais subunidades desse complexo provocam o aumento da concentração sérica desses aminoácidos de cadeia ramificada e dos seus respectivos intermediários metabólicos, o que desencadeia um processo de intoxicação dos tecidos musculoesquelético e neural.² Diante do exposto, a DXB pode ser descrita tanto como uma aminoacidopatia, como uma acidúria orgânica.³ Além disso, os diferentes graus de comprometimento do complexo enzimático supracitado possuem íntima relação com as formas de manifestação clínica da doença, as quais dependem, principalmente, da atividade residual enzimática.² Sendo assim, a leucinose pode ser considerada uma patologia de espectro clínico bastante amplo,^{2,3} com cinco formas de apresentação descritas até hoje, cujos sintomas podem variar desde irritabilidade, letargia, inapetência e evoluir para intoxicação grave, seguida por coma, edema cerebral, insuficiência respiratória e óbito.⁴

Dessarte, o diagnóstico correto e precoce da DXB faz-se extremamente necessário, pois, nos casos em que não há acesso ao tratamento adequado em tempo hábil, as chances de apresentação mais graves da doença são potencializadas, podendo evoluir com edema cerebral e morte prematura, sobretudo no caso da forma clássica da doença, que é a mais comum em neonatos.^{2,4,5} Portanto, a Triagem Neonatal para DXB é uma ferramenta essencial para a investigação dos casos dessa aminoacidopatia, ainda que em indivíduos assintomáticos, justamente para garantir a possibilidade de intervenção em tempo adequado e evitar o desfecho clínico de óbito, além de atenuar os sinais e sintomas mais graves associados e permitir o acompanhamento longitudinal do desenvolvimento dos pacientes.⁶

Desde 1992, no estado da Bahia, a Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais Salvador (APAE Salvador), Serviço de Referência de Triagem Neonatal (SRTN), disponibiliza o teste de triagem para DXB através do Sistema Único de Saúde (SUS), mesmo que esse ainda não estivesse disponível no SUS de forma ampla. Antes da implantação do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), em junho de 2001, quando o Ministério da Saúde credenciou os Serviços de Referência em Triagem Neonatal (SRTN), o volume de exames era diminuto e

somente a partir do ano de 2002, a APAE também passa a oferecer a cromatografia qualitativa de aminoácidos (CAA) como método de triagem de aminoacidopatias, permitindo, então, a identificação de suspeita de alteração no exame pela alteração na concentração de leucina e isoleucina, aminoácidos de cadeia ramificada supracitados.² Diferente dos outros estados da federação, esse procedimento foi realizado, como triagem populacional dos RNs somente na Bahia.

A nível nacional, em 2021, foi sancionada a lei nº14.154 que ampliou para 50 o número de doenças raras detectadas pelo Teste do Pezinho, porém, apenas o Distrito Federal disponibiliza a versão ampliada do teste pelo SUS, além de ainda não incluir todas as doenças.^{7,8} Essa lei, quando implantada operacionalmente, contemplará a leucinoze no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) como um dos possíveis diagnósticos, dentro do grupo das aminoacidopatias. Nessa expansão do PNTN, o diagnóstico será feito por meio do uso da espectrometria de massa em tandem (MS/MS), considerado o padrão-ouro para o diagnóstico.

Ante o exposto, a inclusão da DXB no programa de TN está relacionada ao fato de que na sua forma clássica e mais comum em neonatos, os recém-nascidos são assintomáticos em um período inicial, mas, sem a garantia do tratamento adequado em tempo hábil, esses podem passar a apresentar as primeiras manifestações características da patologia, como o cheiro de xarope de bordo no cerume nas primeiras 24 horas, encefalopatia progressiva e odor de xarope de bordo na urina em até 4 dias.⁵ Nos casos em que não se prossegue com tratamento, o neonato pode apresentar irritabilidade, letargia, inapetência, vômitos, movimentos de “ciclista”, com intoxicação grave seguida de coma, edema cerebral e insuficiência respiratória central e, conseqüentemente, morte prematura.^{1,5,6} Assim, embora o exame laboratorial realizado no SRTN da Bahia não seja o MS/MS, a CAA tem propiciado a identificação de casos de DXB e provido a oportunidade de se prestar assistência a essas crianças de forma mais precoce. Portanto, avaliar o desempenho operacional da triagem para a DXB no estado da Bahia é fundamental para se conhecer como a triagem para DXB está operacionalizada, conhecer os tempos e fluxos envolvidos no processo, abranger cada vez mais portadores da doença precocemente e encontrar meios mais efetivos de viabilizar todas as etapas do diagnóstico.

2. OBJETIVO

2.1 Geral

Avaliar o desempenho operacional do programa de triagem neonatal para Doença do Xarope de Bordo (DXB) no estado da Bahia, entre os anos de 2011 e 2022.

2.2 Específicos

- a) Determinar a incidência de DXB entre as crianças submetidas à triagem durante o período do estudo;
- b) Avaliar o fluxo coleta-triagem-busca ativa-acompanhamento, com foco nos exames confirmatórios;
- c) Mensurar anualmente a cobertura da triagem neonatal para DXB a partir de 2011;
- d) Calcular o percentual de falsos positivos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Doença do Xarope de Bordo

A Doença da urina de Xarope de Bordo (DXB), ou Leucinose, é uma patologia genética autossômica recessiva que afeta o complexo alfa-cetoácido-desidrogenase de cadeia ramificada (BCKDH).^{1,2}

Esse complexo enzimático, em indivíduos sadios, é responsável pelo catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), como leucina, valina e isoleucina², os quais são essenciais para funções fisiológicas.^{3,4} A reação catabólica destas biomoléculas se dá em duas etapas principais no interior das mitocôndrias. Primeiramente, ocorre a transaminação reversível dos BCAA pela aminotransferase de cadeia ramificada, nos seus respectivos cetoácidos. Em seguida, o complexo enzimático BCKDH realiza a descarboxilação oxidativa para formar os derivados de acetilcoenzima A (Acetil-CoA) provenientes dos aminoácidos essenciais supracitados.^{1,3,4}

O BCKDH possui em sua composição algumas subunidades¹, são elas: a E1, Descarboxilase dependente de tiamina; E2, transacilase dependente de lipoato; e a E3, uma desidrogenase.⁴ Portanto, a presença de mutações patogênicas no gene BCKDHA, pode resultar em alterações no funcionamento do complexo enzimático, pelas modificações causadas nessas subunidades, comprometendo o metabolismo da valina, leucina e isoleucina, o que configura a Doença do Xarope de Bordo.^{1,3,4} Devido à variedade de subunidades do BCKDH, as mutações que comprometem o processo de tradução desses componentes causam acúmulo e aumento nos níveis plasmáticos dos aminoácidos em questão, e, nos casos em que não haja um tratamento adequado precocemente, esses acabam desencadeando uma intoxicação metabólica que resulta em uma série de manifestações clínicas, como disfunções neurológicas, musculoesqueléticas e do sistema imune.^{1,5}

3.1.1 Classificação da DXB

A DXB pode ser classificada de acordo com sua apresentação clínica em cinco categorias: clássica (severa), intermediária, intermitente, responsiva à tiamina e deficiente em E3.^{1,5} As formas clássica e deficiente em E3 são mais comuns em neonatos, enquanto as outras formas podem se manifestar em qualquer idade e agudizar em casos de estresse ou adoecimento.¹

3.1.2 Forma Clássica

Na forma clássica da doença, os recém-nascidos são assintomáticos em um período inicial, mas, sem o início do tratamento adequado em tempo hábil, podem apresentar as primeiras manifestações características da leucinose, como o cheiro de xarope de bordo no cerume nas primeiras 24 horas, encefalopatia progressiva e odor de xarope de bordo na urina em até 4 dias.⁵ Caso não se prossiga com tratamento, o neonato pode apresentar irritabilidade, letargia, inapetência, vômitos, movimentos de “ciclista”, com intoxicação grave seguida de coma, edema cerebral e insuficiência respiratória central e, conseqüentemente, morte prematura.^{1,5,6}

3.1.3. Forma intermediária

Pacientes portadores da forma intermediária da DXB possuem uma deficiência parcial da alfa-cetoácido desidrogenase, portanto, apresentam certo potencial metabólico residual.^{1,4} Em casos de intoxicação metabólica severa, desencadeada por situações de estresse catabólico como traumas e exercícios físicos, manifestações clínicas características da doença são evidenciadas.^{1,5}

3.1.4 Forma intermitente

A forma intermitente da DXB caracteriza-se por surgir em pacientes de idades variáveis, visto que se apresenta, muitas das vezes, de forma completamente assintomática, permitindo crescimento e desenvolvimento neurológico normal mesmo com uma dieta irrestrita. O diagnóstico dessa forma pode ser feito durante crises agudas de descompensação metabólica desencadeadas por quadros infecciosos ou por excesso de proteína na dieta e em indivíduos que apresentem atraso de desenvolvimento neuropsicomotor.²

3.1.5 Forma responsiva à tiamina

A forma da DXB responsiva à tiamina é uma variação mais rara da doença e difícil de ser comprovada, pois os pacientes portadores supostamente possuem 40% da atividade enzimática e, por conta disso, não manifestam sintomas durante o período neonatal.^{1,2,5}

3.1.6 Forma deficiente em E3

Indivíduos portadores da forma deficiente da subunidade E3 apresentam um espectro fenotípico vasto, visto que essa subunidade compõe, além do complexo enzimático desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada (CACR), mais dois complexos enzimáticos mitocondriais: complexo da piruvato desidrogenase e complexo da desidrogenase

do α -cetogluturato. Os sintomas surgem em idades variadas, desde o período neonatal até a vida adulta.^{1,4}

3.2 Triagem Neonatal

A Triagem Neonatal corresponde a um conjunto de ações preventivas ao nível secundário que envolve uma rede complexa de atores da atenção primária até serviços de alta complexidade. A TN tem como objetivo principal identificar na população com idade de 0 a 28 dias àqueles com doenças ainda sem manifestações clínicas, em tempo hábil de se estabelecer uma terapêutica efetiva para reduzir e/ou evitar a morbimortalidade. Essa estratégia compõe as políticas públicas de diversos países e permite a abordagem e o tratamento precoce dos recém-nascidos diagnosticados com certas patologias, reduzindo significativamente os índices de morbidade e mortalidade.^{7,19}

No Brasil, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), criado em 2001 pelo Ministério da Saúde, preconiza que os neonatos sejam submetidos a quatro testes de triagem, sendo eles: Oximetria de pulso (Teste do Coraçãozinho) e Teste do Reflexo Vermelho (Teste do Olhinho) nas primeiras 24 horas de vida; Triagem Auditiva (Teste da Orelhinha) durante o primeiro mês de vida e a Triagem Biológica (Teste do Pezinho) entre o terceiro e quinto dia de vida, preferencialmente.⁸ O Teste do Pezinho (TP) é um teste de fácil e rápida execução o qual, a partir da coleta de matriz biológica do recém-nascido (RN), possibilita a identificação de doenças metabólicas, enzimáticas, genéticas e endocrinológicas em tempo oportuno para intervenção adequada. A triagem precoce permite o monitoramento do plano terapêutico dos casos positivos, além de evitar sequelas irreversíveis e o óbito de pacientes com diagnóstico tardio ou inexistente.^{7,19}

Especificamente no que tange à DXB, apesar de ser possível atualmente identificar esse erro inato do metabolismo através do Teste do Pezinho, a triagem para essa doença ainda não é disponibilizada através do Sistema Único de Saúde (SUS), sendo necessário, na maior parte dos casos, recorrer aos laboratórios privados. No entanto, desde 1992, no estado da Bahia, a Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) oferece o teste de triagem para DXB através do SUS. A partir de 2001, com a criação do PNTN, o Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN), cadastrado na Bahia pelo Ministério da Saúde, foi a própria APAE Salvador, que é responsável pela realização do teste do pezinho dos 417 municípios da Bahia. O teste realizado a partir do sangue impregnado em papel filtro fornece um resultado qualitativo quando submetido a um exame denominado cromatografia de aminoácidos em camada delgada (CAA), o qual, nesse caso, é considerado apenas um teste de triagem, e não um teste

diagnóstico. O exame é considerado alterado quando o CAA evidencia níveis exacerbados dos aminoácidos leucina e isoleucina, o que é caracterizado por uma maior área na faixa em que corre a leucina e a isoleucina na CAA (figura 1).



Figura 1 – Cromatografia qualitativa de AA com alteração compatível com elevação de Valina (laranja) e Leucina/isoleucina (azul). (Fonte: SRTN. Apae Salvador, 2024)

Nesses casos, é realizado um outro exame em um kit laboratorial chamado NeoLISA MSUD[®] kit, o qual, através de amostras de sangue também coletadas em papel filtro, fornecerá resultados quantitativos dos aminoácidos leucina e isoleucina, sem diferenciá-los. A confirmação do diagnóstico de DXB é obtida através da identificação de níveis elevados metabólitos específicos dos BCAA (leucina, isoleucina, valina e aloisoleucina) por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e/ou dosagem de iso-alo-leucina.^{2,9}

Outra opção para triagem da DXB é a Espectrometria de Massa em tandem (Tandem MS/MS), um teste de custo muito mais elevado que a CAA, mas que fornece um resultado quantitativo já na primeira amostra, sendo considerado além de um teste de triagem, um teste diagnóstico. A sensibilidade e especificidade do Tandem MS/MS para diagnóstico da DXB é de, respectivamente 98% e 100%. Nos Estados Unidos, o uso desse teste tem ajudado no diagnóstico precoce da doença, possibilitando intervenção médica em tempo hábil para alterar

o prognóstico de indivíduos afetados.^{1,2,9}. Esse é o método pretendido para uso no programa de TN no Brasil.

A DXB atende maior parte dos critérios de Wilson e Jungner (1968) para triagem, visto que possui uma fase latente que é reconhecível ou sintomática precoce e também um tratamento que já é aceito para pacientes com diagnóstico confirmado. Implementar a triagem para DXB no PNTN possibilitaria um diagnóstico mais precoce e intervenção efetiva. Em países nos quais isso já ocorre, como nos Estados Unidos, pacientes podem ser diagnosticados com até menos de 10 dias de vida. Enquanto em países como o Chile, onde a DXB não está inclusa nos programas públicos, esse diagnóstico é postergado, o que pode levar a danos irreversíveis no desenvolvimento dessas crianças.^{17,20}

4. MÉTODOS

4.1 Desenho de estudo

Estudo de série temporal, de base populacional para avaliação do sistema de coleta, processamento, identificação de casos suspeitos e confirmação diagnóstica do programa de triagem neonatal para DXB no estado da Bahia. O evento de interesse corresponde a incidência da doença no período do estudo, com unidade de tempo especificada em anos.

4.2 Local e população alvo do estudo

O estudo foi conduzido no Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) do estado da Bahia, a APAE Salvador, responsável por gerenciar o processo de triagem, confirmação diagnóstica e acompanhamento ambulatorial dos casos. A coleta do exame é descentralizada em mais de 5000 unidades de coleta na Bahia, majoritariamente Unidades Básicas de Saúde (UBS), Unidades de Saúde da Família (USF) e maternidades.

Todas as crianças que foram submetidas a TN para DXB no período de 2011 a 2022 no Estado da Bahia correspondem a população do estudo. Como a TN pelo SUS tem uma cobertura próxima a 90% do total de RNs nascidos na Bahia, estima-se que o programa contemple, praticamente, todo o universo de RNs que utilizam o SUS como referência para a assistência em saúde.

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

Todas as crianças que coletaram uma amostra de CAA qualitativa no PNTN da Bahia, no período do estudo, foram incluídas. Aquelas com a primeira amostra inconclusiva e que não foram localizados para obter a segunda amostra serão excluídas, embora a ocorrência de caso indeterminado tenha sido utilizada para cálculos complementares.

4.4 Operacionalização e procedimentos de Coleta de Dados

Os dados foram coletados no SRTN, onde foram consultados os bancos de dados da triagem neonatal, dos quais obtiveram-se dados sobre os tempos (datas) em que ocorreram as etapas da triagem, os resultados dos exames de triagem e confirmação do diagnóstico.

Os dados foram organizados em planilhas eletrônicas por quadrimestre e depois convertidos para o formato dta, compatível com o software estatístico Stata, no qual foi feita a junção (*merge*) dos quadrimestres, gerando um arquivo completo por ano.

4.5 Operacionalização das Variáveis e Análise dos Dados

Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva (medidas de frequência, tendência central, dispersão e localização). Cada tempo operacional foi calculado e descrito. Os tempos considerados foram: 1) idade da coleta, correspondendo ao tempo decorrido entre o nascimento e a coleta do teste do pezinho; 2) tempo de retenção da amostra, correspondendo ao tempo decorrido entre a coleta do teste do pezinho e o cadastro da amostra no SRTN; 3) Tempo de liberação do resultado, que é o intervalo entre o cadastro do exame e a liberação do mesmo pelo laboratório do SRTN.

Também foram resgatados os valores dos resultados dos exames realizados, a taxa de cobertura, obtida por meio da razão entre o número de triados no ano e o total de RNs nascidos vivos na Bahia, multiplicado por 100; e a taxa de falso positivo, revelando o total de casos não confirmados sobre o total de casos suspeitos (confirmados + não confirmados), expresso em percentual.

A incidência acumulada foi calculada pela razão entre o número total de casos positivos confirmados ou prováveis e o número de triados e o número de RNs registrados no SINASC, multiplicados por 100.000.

Foi utilizado o pacote estatístico Stata®, versão 17.0, com licença vinculada ao Núcleo de Pesquisa da Apae Salvador.

4.6 Aspectos bioéticos

O atual projeto obedece aos princípios de ética em pesquisa estabelecido pela Declaração de Helsinque e está de acordo com as Resoluções 466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPES, por meio do C.A.E.E número 68651623.0.0000.0049.

5. RESULTADOS

No período avaliado (2011 a 2022), 2.050.387 crianças foram triadas pelo PNTN da Bahia para a DXB (tabela 1). Esse total de triados representou uma cobertura global de 85,7%. Esse indicador apresentou pequena oscilação, não significativa no período ($\beta=-0,0002$; $r^2=0,0268$).

Em relação a incidência de casos triados positivos, observou-se uma média de incremento anual de 3,0 casos/ano, principalmente após o ano de 2016 ($\beta=2,9428$; $r^2=0,7245$). Em direção inversa, o percentual de amostras consideradas inadequadas para a realização da cromatografia qualitativa de aminoácidos caiu no período, especialmente após 2016, mantendo-se abaixo de 0,1% do total de triados, desde então ($\beta=-0,0011$; $r^2=0,6755$).

Tabela 1 - Número absoluto e percentual de triados e amostras inadequadas, triados positivos na primeira amostra, incidência e cobertura da TN para a DXB na Bahia, entre 2011 e 2022.

Ano	Nascidos Vivos	Nascidos Triados	Amostras inadequadas		Triados positivos DXB		Cobertura (%)
	N	N	N	%	N	incidência*	
2011	215.032	187.266	2.085	1,11%	4	2,14	87,1%
2012	209.999	179.245	1.495	0,83%	7	3,91	85,4%
2013	203.342	173.285	1.751	1,01%	1	0,58	85,2%
2014	204.034	174.359	2.447	1,40%	2	1,15	85,5%
2015	206.655	177.175	911	0,51%	9	5,08	85,7%
2016	199.830	169.276	347	0,20%	33	19,49	84,7%
2017	204.096	174.867	9	0,01%	34	19,44	85,7%
2018	205.332	175.880	82	0,05%	24	13,65	85,7%
2019	197.249	169.423	117	0,07%	35	20,66	85,9%
2020	188.960	161.855	103	0,06%	25	15,45	85,7%
2021	185.459	158.949	131	0,08%	34	21,39	85,7%
2022	173.824	148.807	148	0,10%	65	43,68	85,6%
TOTAL	2.393.812	2.050.387	9.626	0,47%	273	13,31	85,7%

Fonte: Banco de Dados, SRTN, Apae Salvador, 2024; *casos/100.000 nascidos vivos triados

Em relação aos indicadores operacionais, observou-se, a queda da mediana da idade de coleta do teste do pezinho de 9,0 dias para 6,0 dias, entre o início e o final da série estudada (tabela 2). Esse indicador foi acompanhado do aumento significativo do percentual da coleta realizada na idade preconizada, entre 3 e 5 dias, de 18,1% para 39,6% ($\beta=1,8045$; $r^2=0,9625$), como mostrado no gráfico 1.

O tempo para a liberação do resultado pelo SRTN foi o indicador de melhor evolução no período avaliado, com aumento médio anual de 5,1% ao ano de disponibilização em até 2 dias após a chegada da amostra no laboratório ($\beta=5,0682$; $r^2=0,6869$), conforme mostra o gráfico 1. Em direção oposta, o tempo de retenção da amostra praticamente não oscilou desde 2015, com mediana (p25 – p75) de 10,0 (7,0 – 15,0) dias (tabela 2), com uma queda média de 2,3% ao ano (gráfico 1).

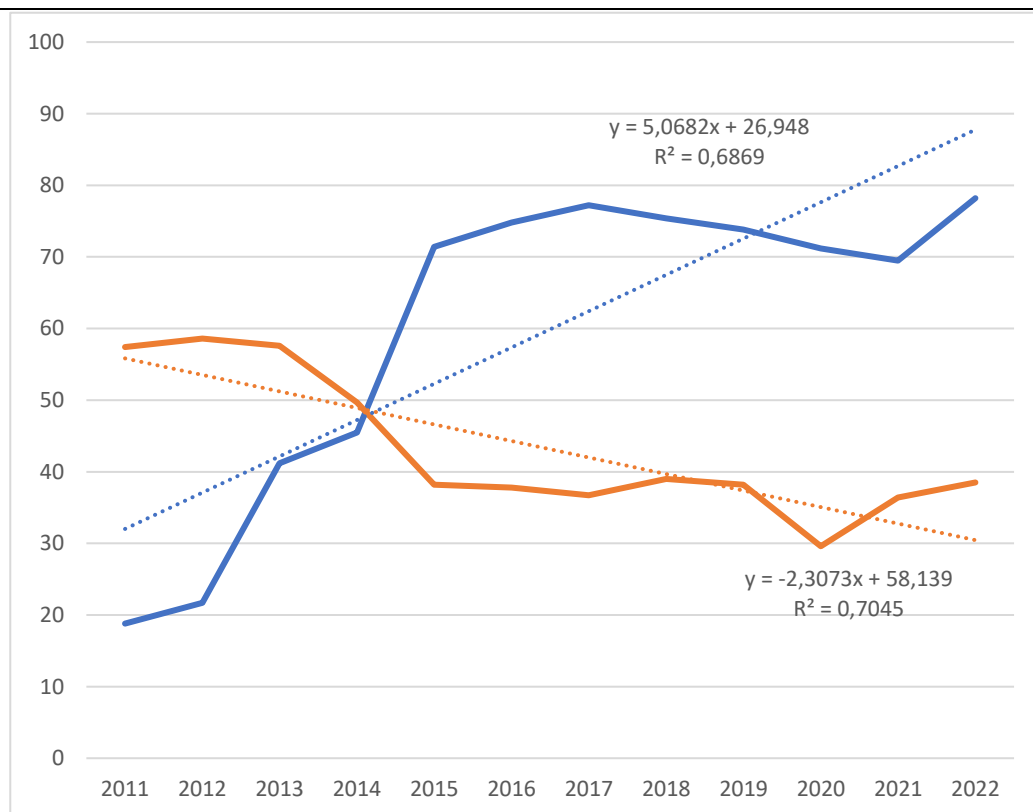


Gráfico 1 – Evolução do percentual do tempo de liberação do resultado do exame em até 2 dias (azul) e do percentual do tempo de retenção da amostra até 8 dias (laranja) com as respectivas linhas de tendência linear.

Tabela 2 – Idade da coleta do teste do pezinho (TP), tempo de retenção da amostra pela UBS, USF ou maternidade e tempo de liberação do resultado pelo SRTN entre 2011 e 2022 no estado da Bahia.

Ano	Idade da coleta*			Tempo de retenção*			Tempo de liberação*		
	Mediana	p25 - p75	%	Mediana	p25 - p75	%	Mediana	p25 - p75	%
2011	9,0	7,0 - 15,0	18,1	8,0	6,0-12,0	57,4	4,0	3,0 - 5,0	18,8
2012	9,0	6,0-14,0	19,8	8,0	6,0-12,0	58,6	4,0	3,0-5,0	21,7
2013	9,0	6,0-14,0	21,8	8,0	6,0-12,0	57,6	3,0	2,0-4,0	41,2
2014	9,0	6,0-14,0	22,5	9,0	6,0-13,0	49,7	3,0	2,0-4,0	45,5
2015	8,0	6,0-14,0	23,4	10,0	7,0 - 14,0	38,2	2,0	1,0-3,0	71,4
2016	8,0	5,0-13,0	24,4	10,0	7,0-15,0	37,8	1,0	1,0-3,0	74,8
2017	8,0	5,0-12,0	26,8	10,0	7,0-15,0	36,7	1,0	1,0-2,0	77,2
2018	7,0	5,0-12,0	29,7	10,0	7,0-15,0	39,0	1,0	1,0-2,0	75,4
2019	7,0	5,0-11,0	32,7	10,0	7,0-15,0	38,2	1,0	1,0-3,0	73,8
2020	6,0	4,0-10,0	32,0	12,0	8,0-17,0	29,6	1,0	1,0-3,0	71,2
2021	6,0	4,0-10,0	34,9	11,0	7,0-15,0	36,4	1,0	1,0-3,0	69,5
2022	6,0	4,0-10,0	39,6	10,0	7,0-15,0	38,5	1,0	1,0-2,0	78,2

Fonte: Banco de Dados. SRTN. Apae Salvador, 2024; *em dias.

Dos 2.050.387 nascidos vivos triados no período do estudo, 273 crianças tiveram a primeira amostra descrita como alterada para a presença de leucina/isoleucina. Em média, a incidência de casos triados positivos no período estudado foi de 13,31 casos para cada 100.000 nascidos triados.

Essas crianças realizaram o TP em mediana (p25 - p75) aos 7,0 (4,0 - 10,0) dias de vida, variando de 1 a 185 dias. Dessas, 267 (97,8%) realizaram a dosagem da leucina/isoleucina usando o kit NeoLISA[®] MSUD. Os valores médios (DP) obtidos foram de 547,84 (342,68) $\mu\text{mol/L}$, variando de 152,6 a 3.212,23 $\mu\text{mol/L}$. Nesse conjunto de dados, 8 casos foram considerados normais (leucina/isoleucina < 381,0 $\mu\text{mol/L}$).

Uma segunda amostra do kit NeoLISA[®] MSUD foi realizada em 228 crianças. Dessas, 50 apresentaram resultado acima de 381,0 $\mu\text{mol/L}$ no kit e tiveram diagnóstico confirmado para DXB pelo exame HPLC, MS/MS e/ou Painel de Leucinose, ou vieram a óbito antes da confirmação da aminoacidopatia, mas com quadro clínico compatível, indicando diagnóstico provável.

Com esse dado, a incidência acumulada conhecida de DXB no estado da Bahia entre 2011 e 2022 foi de 2,44 casos para cada 100.000 nascidos vivos triados ou de, aproximadamente, 1 caso para cada 41.000 nascidos vivos triados e para cada 48.000 nascidos vivos registrados no SINASC.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou a evolução dos parâmetros operacionais e os parâmetros de incidência da triagem neonatal para DXB no estado da Bahia entre 2011 e 2022. Resumidamente, observou-se uma cobertura estável no período, próxima a 86% dos nascidos vivos registrados no SINASC. Uma queda na idade da coleta do teste do pezinho ocorreu no período, contudo, um pouco mais de 60% das crianças não coletam o exame na idade recomendada de 3 a 5 dias de vida. Ademais, o tempo de transporte da amostra entre a coleta na UBS, USF ou maternidade e o cadastro dela no laboratório do SRTN mantém-se elevado, com mediana de 10,0 dias ou mais, nos últimos 8 anos, pior do que no início da série. Em contrapartida, o tempo para liberação do resultado caiu vertiginosamente, representando o indicador operacional de melhor evolução entre os estudados, ao lado da redução do percentual de amostras inadequadas. Adicionalmente, os dados mostram uma incidência de um caso para um pouco menos de 50.000 nascidos vivos registrados.

Segundo dados do Programa Nacional de Triagem Neonatal de 2021, menos de 60% dos recém nascidos triados entre os anos de 2016 e 2020 no Brasil realizaram a coleta do teste com menos de 5 dias de vida. Em países nos quais a DXB faz parte da triagem neonatal, os pacientes normalmente são diagnosticados com menos de 10 dias de vida, aspecto crucial para intervenção precoce e mais efetiva diante da patologia.² No estado da Bahia, onde mais de 60% das crianças não coletam o exame na idade recomendada, o pior prognóstico da doença torna-se ainda mais alarmante, aumentando o número de complicações, sequelas graves e óbitos.¹⁴

Ainda no que tange aos triados entre 3 e 5 dias de vida, percebe-se uma melhora da mediana no ano de 2020, quando atingiu 6 dias pela primeira vez desde 2011. Isso pode ter ocorrido devido a nota técnica nº 38 emitida pela Secretaria de Saúde do Estado da Bahia em 31 de março de 2020, a qual orientou as maternidades a coletar o teste do pezinho logo no momento da alta hospitalar como medida de prevenção frente ao novo coronavírus (SARS-CoV-2).¹² Esse fato também pode explicar, em parte, o aumento acentuado no número de triados positivos nos três últimos anos da série, dado que a coleta precoce, abaixo de 2 dias, pode ser uma explicação para níveis mais elevados de leucina/isoleucina.⁶

O tempo de retenção da amostra permaneceu como um dos piores indicadores no intervalo do estudo e representa quantos dias a amostra coletada permanece retida na unidade responsável pelo teste antes de ser enviada ao laboratório para análise. Desde 2015, mais de 60% das amostras colhidas demoram mais de 8 dias para chegarem ao SRTN. No ano de 2016,

o estado de Minas Gerais apresentou tempo médio de 4 dias para esse mesmo indicador, enquanto o Distrito Federal e o Amazonas tiveram tempo médio de 3 dias.¹⁰ O tempo prolongado desse indicador operacional pode ter implicações relevantes em pacientes com diagnóstico positivo, visto que maior parte dos pacientes diagnosticados com mais de 14 dias de vida terão desenvolvimento anormal e os melhores prognósticos são observados em crianças que começam a receber o tratamento adequado com menos de 10 dias de vida.¹⁶

A queda expressiva do volume de amostras inadequadas, principalmente a partir de 2016, pode estar relacionada ao melhor treinamento dos responsáveis pela coleta da amostra. Sabe-se que amostras insuficientes, diluídas, hemolisadas ou supersaturadas prejudicam a análise do sangue em papel filtro, demandando a repetição do exame em alguns casos. A necessidade de uma nova coleta atrasa o processo de triagem do RN, fazendo que com a liberação do resultado seja mais tardia, o que nos casos de pacientes com DXB prejudicaria drasticamente o desfecho clínico.¹¹

Um indicador muito positivo identificado durante o estudo foi o tempo de liberação do resultado da amostra pelo SRTN. Visto que, mesmo com um grande volume de pacientes triados entre 2011 e 2022, desde 2015 a mediana está dentro do limite estipulado pelo serviço de referência (até 2 dias). Em Minas Gerais, o tempo médio de liberação do resultado da amostra pelo laboratório foi 2 dias em 2016, contrastando com o tempo médio de 30 dias no estado do Amazonas nesse mesmo ano.¹⁰

O aumento do número de triados positivos pode ter relação com o fluxo de triagem para DXB implementado e aperfeiçoado pelo SRTN ao longo dos anos. A coleta precoce, como dito anteriormente, também pode ser uma hipótese explicativa para este achado. Os pacientes são triados pela CAA qualitativa, a qual, quando alterada, dispara a realização de um kit NeoLISA[®] MSUD sobre aquela mesma amostra, se essa estiver adequada. Nos casos em que o kit evidencia um resultado acima de 381,0 $\mu\text{mol/L}$, os pacientes são imediatamente contactados pela equipe de busca ativa do serviço para pesquisa da situação atual da criança, repetição do kit e marcação de consultas com profissionais especialistas do SRTN. Mesmo que o padrão ouro para diagnóstico de DXB seja a Espectrometria de Massa em Tandem (MS/MS), com sensibilidade e especificidade de, respectivamente, 98% e 100%, esse fluxo adaptado permitiu a possibilidade de intervenção mais precoce em muitos pacientes com resultados alterados na triagem que não teriam essa oportunidade.

Segundo indicadores do PNTN de 2021, a cobertura do programa, ou seja, o percentual de crianças que realizaram exames de triagem neonatal em relação ao número de nascidos vivos, de 2016 a 2020 chegou a pouco mais de 80%. No estado de Minas Gerais, cerca de 90% dos recém-nascidos vivos foram triados de 2014 a 2016. Nesse mesmo período, o percentual de RNs triados no estado do Amazonas foi de 69%, 68,65% e 74% em 2014, 2015 e 2016, respectivamente.¹⁰ A cobertura nacional aproxima-se do percentual encontrado durante esse estudo (85,7%), e a estabilização desse indicador de 2011 a 2020 pode estar relacionada a fatores como as coletas de TP que são realizadas em laboratórios privados, e não pelo SUS, além da falta de alcance de grupos populacionais que residem em áreas mais remotas, dificultando a execução da triagem neonatal.

No que diz respeito ao percentual de falsos positivos, a partir de dados coletados pela Busca Ativa do SRTN, 50 crianças das 273 triadas positivas para DXB apresentaram diagnóstico confirmado para DXB pelo exame HPLC, MS/MS ou Painel de Leucinose, ou vieram a óbito antes da confirmação da aminoacidopatia, mas com quadro clínico compatível, indicando diagnóstico provável. Os outros 253 pacientes foram classificados como normalizados pelo sistema após segunda amostra do kit NeoLISA[®] MSUD inalterada. Diante disso, o percentual de falsos positivos após triagem para DXB, de 2011 a 2022, foi de 81,7%. Com o uso da técnica MS/MS para análise das alterações dos aminoácidos, espera-se uma redução nos casos triados falso-positivos, o que melhorará esse indicador, embora não deverá neutralizá-lo.⁴

A limitação do estudo reside principalmente na técnica utilizada para triagem da doença, visto que não é mais recomendada por ter acurácia menor que o MS/MS, por exemplo.¹⁶ Contudo, a rotina de realizar a CAA e posteriormente o kit NeoLISA[®] MSUD possibilitou o diagnóstico precoce e tratamento em tempo hábil de crianças com DXB as quais, provavelmente, teriam ido a óbito sem o diagnóstico provido pela TN no SRTN. Adicionalmente, a perda de dados em relação a alguns casos que não puderam realizar as dosagens de leucina, isoleucina, valina e alo-iso-leucina para confirmação diagnóstica podem ter superestimado a incidência de casos, que está um pouco acima do descrito na literatura mundial que revela 1 caso para cada 100.000 a 200.000 nascidos vivos. Reforça essa hipótese o fato de que RNs prematuros tendem a ter quadros sépticos que mimetizam os principais achados da DXB em sua fase terminal, tais como coma, acidose metabólica e convulsões, com óbito precoce.

Independente dessas limitações, o estudo revela a necessidade de uma articulação muito mais ágil entre as unidades de coleta e o SRTN, bem como todos os profissionais envolvidos no pré-natal, para estabelecerem ações que reduzam a idade da coleta para o 3º dia de vida, minimizem o tempo de armazenamento das amostras e potencialize a busca ativa.

7. CONCLUSÃO

A Doença de Xarope de Bordo é um erro inato do metabolismo com repercussões graves em crianças acometidas que não recebem diagnóstico e tratamento adequado em tempo hábil. O tempo é determinante crucial no prognóstico desses pacientes. Frente a isso, o presente estudo demonstrou que existem muitas oportunidades de melhoria no que diz respeito à triagem neonatal para a doença na Bahia, visto que, mesmo sendo oferecida através do SUS desde 1992, ainda existem indicadores operacionais a serem melhorados para otimizar a triagem neonatal como um todo. Entender os motivos desses gargalos é fundamental para a expansão do PNTN no Brasil para as incorporar a TN para as aminoacidopatias.


Em suma, mais estudos que permitam aprofundar o conhecimento acerca da DXB e sua atual triagem são essenciais para elaborar um modelo operacional de diagnóstico mais efetivo. Dados como esses possibilitariam otimizar indicadores operacionais como a idade na realização do teste do pezinho, tempo de retenção da amostra e tempo de liberação do resultado, visando oferecer um melhor prognóstico a esses pacientes no futuro.

REFERÊNCIAS

1. Blackburn PR, Gass JM, Pinto e Vairo F, Farnham KM, Atwal HK, Macklin S, et al. Maple syrup urine disease: Mechanisms and management. Vol. 10, Application of Clinical Genetics. Dove Medical Press Ltd.; 2017. p. 57–66.
2. Herber S, Schwartz I, Nalin T, Oliveira Netto C, Camelo Junior J, Santos M, et al. Doença da urina do xarope de bordo no Brasil: um panorama das duas últimas décadas [Internet]. 2012. Acesso em: [9 novembro 2022]. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/48974>
3. Xu J, Jakher Y, Ahrens-Nicklas RC. Molecular Sciences Brain Branched-Chain Amino Acids in Maple Syrup Urine Disease: Implications for Neurological Disorders. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020. Cited [2022 november 9]. Available from: www.mdpi.com/journal/ijms
4. Manoli I, Venditti CP. Disorders of branched chain amino acid metabolism. *Transl Sci Rare Dis* [Internet]. 2016. Cited [2022 november 13]; 1:91–110. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29152456/>
5. Strauss KA, Puffenberger EG, Carson VJ, Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM. Maple Syrup Urine Disease. 2006.
6. Strauss KA, Carson VJ, Soltys K, Young ME, Bowser LE, Puffenberger EG, et al. Branched-chain α -ketoacid dehydrogenase deficiency (maple syrup urine disease): Treatment, biomarkers, and outcomes. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2020. Cited [2022 november 9]; 129(3):193–206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31980395/>
7. Ministério da Saúde. Manual técnico da Triagem Neonatal Biológica. 2016.
8. Ministério da Saúde. Portaria nº 2068, de 21 de Outubro [Internet]. Acesso em: [10 dezembro 2022]. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/gm/2016/prt2068_21_10_2016.htm
9. Campos SC, Santos D, Bahia S. Estudo Clínico-Epidemiológico da Doença da Urina do Xarope do Bordo, no Estado da Bahia (2001-2017) [Internet]. 2018. Acesso em: [10 dezembro 2022]. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/36078>
10. Ministério da Saúde. Caderno de Informação: Triagem Neonatal: dados 2014-2016. Brasília-DF. 2021.
11. Nupad orienta sobre coleta para triagem neonatal. Nupad [Internet]. Cited [2024 April 18]. Available from: <https://www.nupad.medicina.ufmg.br/nupad-orienta-sobre-coleta-para-triagem-neonatal/#:~:text=%E2%80%9CCom%20uma%20amostra%20inadequada%20ser%C3%A1%20um%20dos%20respons%C3%A1veis%20pela%20capacit%C3%A7%C3%A3o.>
12. Secretaria de Saúde do Estado da Bahia. Nota técnica nº 38 de 31 de Março de 2020 [Internet]. Cited [2024 March 31]. Available from: <https://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/NT-n%C2%BA38-Medida-contr-o-covid-19-Triagem-Neonatal-DGC-Diretoria.pdf>
13. Sespa ressalta a importância do Teste do Pezinho para todos os recém nascidos [Internet]. Cited [2024 March 31]. Available from: <http://www.saude.pa.gov.br/sespa-ressalta-a-importancia-do-teste-do-pezinho-para-todos-os-recem-nascidos/>
14. Ministério da Saúde. Indicadores da Triagem Neonatal no Brasil [Internet]. Cited [2024 April 18]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saes/sangue/pntn/indicadores-da-triagem-neonatal>
15. TabNet Win32 3.2: Nascidos vivos - Brasil [Internet]. Cited [2024 March 21]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinasc/cnv/nvuf.def>

16. Cruz AF. Caracterização clínica, bioquímica e molecular de pacientes com Doença da Urina do Xarope de Bordo [Internet]. 2014. Acesso em: [22 abril 2024]; Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/36719/1/Disserta%20a7%20a3o%20Ana%20Facury%20da%20Cruz%20.pdf>
17. Campanholi DR. Perfil genotípico de pacientes chilenos com Doença do Xarope de Bordo [Internet]. 2021. Acesso em: [22 abril 2024]. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17144/tde-01082019-093537/publico/DIANARUFFATOco.pdf>
18. Sá LW. Relato de caso: Doença da Urina do Xarope de Bordo [Internet]. 2017. Acesso em: [22 abril 2024]. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/08/1282962/tcc-lorena-walter.pdf>
19. Mallmann MB, Tomasi YT, Boing AF. Neonatal screening tests in Brazil: prevalence rates and regional and socioeconomic inequalities. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 2020. Cited [2024 abril 22]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.02.008>
20. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica, nº 29 [Internet]. 2010. Acesso em: [22 abril 2024]. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderno_atencao_primaria_29_rastreamento.pdf

ANEXO A

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - HUPES/UFBA	
---	---

Continuação do Parecer: 6.030.746

Orçamento	Orcamento_Projeto_DXB.pdf	20:01:01	AMARAL BOA SORTE	Aceito
-----------	---------------------------	----------	---------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SALVADOR, 28 de Abril de 2023

Assinado por:
NATANAEL MOURA TEIXEIRA DE JESUS
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar			
Bairro: Canela		CEP: 40.110-060	
UF: BA	Município: SALVADOR		
Telefone: (71)3646-3450	Fax: (71)3646-3524	E-mail: cep.hupes@ebserh.gov.br	