

**Investigação de Erros Inatos do Metabolismos na Associação de Pais e Amigos dos
Excepcionais de Itabira – Minas Gerais**
**Investigation of Inborn Errors of Metabolisms in the Association of Parents and Friends
of the Exceptional of Itabira – Minas Gerais**
**Investigación de Errores Inatos de los Metabolismos en la Asociación de Padres y
Amigos de los Excepcionales de Itabira - Minas Gerais**

Serena Dáfne do Carmo Silva

<https://orcid.org/0000-0002-6705-0323>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: serenadafnecs@yahoo.com.br

Fernanda Cristina Miranda Santos Rodrigues

<https://orcid.org/0000-0003-4561-0454>

Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira, Brasil

E-mail: fernandacmsr@yahoo.com.br

Brenda de Oliveira da Silva

ORCID <https://orcid.org/0000-0003-0178-2449>

Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira, Brasil

E-mail: brenda.silva@funcesi.br

Recebido: 21/01/2019 | Revisado: 30/01/2019 | Aceito: 04/02/2019 | Publicado: 26/02/2019

Resumo

O presente estudo tem como objetivo apresentar os resultados da triagem urinária realizada na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Itabira na tentativa de identificar alguns Erros Inatos do Metabolismo. Foram coletadas amostras de urina de alunos matriculados na APAE/Itabira sem diagnóstico fechado em prontuário. Foram realizados 8 testes qualitativos na urina para triagem de Erros Inatos do Metabolismo. Os responsáveis pelos alunos foram informados sobre os objetivos da pesquisa e somente foram coletadas as amostras de pacientes que apresentaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado. Foram analisadas amostras de 38 alunos, sendo 29 sexo masculino e 9 sexo feminino. Na triagem urinária foram encontrados: 5 resultados positivos para Benedict, 4 duvidosos e 1 positivo para Brometo de de cetiltrimetilamônio (CTMA), 8 duvidosos e 4 positivos para Cloreto Férrico, 2 duvidosos para Dinitrofenilhidrazina, e 3 duvidosos para

Nitrosoaftol. Para que se tenha um diagnóstico definitivo confiável, é necessário fazer a correlação entre a sintomatologia apresentada pelo aluno e os resultados obtidos, fazendo o encaminhamento da amostra analisada para laboratórios que realizam testes específicos para a confirmação ou a anulação da hipótese diagnóstica. A frequência de amostras alteradas demonstra que a triagem urinária é um método de fácil realização, baixo custo e alta confiabilidade.

Palavras-chave: Diagnóstico Genético; Doenças Metabólicas Hereditárias; Triagem urinária.

Abstract

The present study aims to present the results of urinary screening performed in the Association of Parents and Friends of Exceptional (APAE) of Itabira in an attempt to identify some Metabolism Inborn Errors. Urine samples were collected from students enrolled in APAE / Itabira without a closed diagnosis in medical records. Eight qualitative urine tests were performed to screen for Metabolism Inborn Errors. Those responsible for the students were informed about the research objectives and only the samples of patients who had signed a Free and Informed Consent Form were collected. Samples of 38 students were analyzed, being 29 male and 9 female. In urine screening, 5 positive results were found for Benedict, 4 doubtful and 1 positive for cetyltrimethylammonium bromide (CTMA), 8 doubtful and 4 positive for Ferric Chloride, 2 doubtful for Dinitrophenylhydrazine, and 3 doubtful for Nitrosoaftol. In order to have a reliable definitive diagnosis, it is necessary to correlate the symptomatology presented by the student and the results obtained, sending the analyzed sample to laboratories that perform specific tests to confirm or cancel the diagnostic hypothesis. The frequency of altered samples demonstrates that urinary screening is a method of easy achievement, low cost and high reliability.

Keywords: Genetic Diagnosis; Hereditary Metabolic Diseases; Urinary screening.

Resumen

El presente estudio tiene como objetivo presentar los resultados del tamizaje urinario realizado en la Asociación de Padres y Amigos de los Excepcionales (APAE) de Itabira en el intento de identificar algunos Errores Innatos del Metabolismo. Se recogieron muestras de orina de alumnos matriculados en la APAE / Itabira sin diagnóstico cerrado en prontuario. Se realizaron 8 pruebas cualitativas en la orina para la clasificación de Errores Innatos del Metabolismo. Los responsables de los alumnos fueron informados sobre los objetivos de la investigación y solamente fueron recolectadas las muestras de pacientes que presentaron

Término de Consentimiento Libre y Esclarecido firmado. Se analizaron muestras de 38 alumnos, siendo 29 sexo masculino y 9 sexo femenino. En el tamizaje urinario se encontraron: 5 resultados positivos para Benedict, 4 dudosos y 1 positivo para Bromuro de ceftalmetona (CTMA), 8 dudosos y 4 positivos para Cloruro Férrico, 2 dudosos para Dinitrofenilhidrazina, y 3 dudosos para Nitrosonaftol. Para que se tenga un diagnóstico definitivo confiable, es necesario hacer la correlación entre la sintomatología presentada por el alumno y los resultados obtenidos, haciendo el encaminamiento de la muestra analizada para laboratorios que realizan pruebas específicas para la confirmación o la anulación de la hipótesis diagnóstica. La frecuencia de muestras alteradas demuestra que la selección de orina es un método de fácil realización, bajo costo y alta confiabilidad.

Palabras clave: Diagnóstico Genético; Enfermedades Metabólicas Hereditarias; Triage urinario.

1. Introdução

A primeira descrição sobre os Erros Inatos do Metabolismo (EIM) ocorreu há um século, onde houve grandes avanços na ciência e tecnologia, contribuindo para o desenvolvimento do conhecimento sobre a patogênese das doenças metabólicas hereditárias, e contribuindo também para o diagnóstico, tratamento e aconselhamento genético para essas patologias (Garrod, 2002).

EIM se caracteriza por um grupo de doenças hereditárias resultantes da deficiência ou total ausência das reações enzimáticas que ocorrem no metabolismo devido às alterações que ocorrem na estabilidade e atividade das enzimas (Oliveira, Santos, Martins, & D'Almeida, 2001; Levy, 2009). Essas deficiências resultam da falta de atividade de algumas enzimas específicas (sendo uma ou mais delas), e podem levar a falhas no transporte de proteínas, que consequentemente podem levar ao acúmulo de substâncias, que estão presentes em menor quantidade em um organismo saudável, deficiência de produtos intermediários críticos ou produtos finais específicos ou ainda o acúmulo de produtos de vias metabólicas acessórias que são nocivos ao organismo (Tebani, Abily-Donval, Afonso, Marret, & Bekri, 2016).

São doenças geneticamente determinadas, correspondendo à cerca de 10% das doenças genéticas, que possuem uma incidência rara, onde, os cerca de 500 distúrbios conhecidos têm uma incidência acumulada estimada de 1:1000 nascidos vivos. A maioria dos EIM é herdada de forma autossômica recessiva, sendo fundamental o aconselhamento

genético diante de um caso na família (Araújo, 2004; Waters, Adeloye, Woolham, Wastnedge, Patel, & Rudan, 2018).

Os EIM possuem diversas classificações, a mais utilizada é a determinada por Saudubray e Charpentier (1995) (Romão, Simon, Góes, Pinto, Giugliani, Lucac, & Carvalhoc, 2017), que se apresenta mais didática e de maior aplicação clínica. São classificados em dois grandes grupos: Categoria 1: acomete um sistema funcional ou somente um órgão. Categoria 2: ocorre por defeitos bioquímicos onde afeta as vias metabólicas comuns no organismo fazendo com que haja o aumento de substrato produzido em um grande número de células ou órgãos ou então o bloqueio da chegada do substrato a certo órgão, afetando o organismo de forma humoral e sistêmica.

A Categoria 2 é dividida em três grupos distintos: **Grupo I:** Distúrbios de síntese ou catabolismo de moléculas complexas; **Grupo II:** Erros inatos do metabolismo intermediário que culminam em intoxicação aguda ou crônica; **Grupo III:** Deficiência na produção ou utilização de energia (Souza, 2002).

Muitos erros inatos se apresentam de maneira precoce, com frequência relativa no período neonatal (Wajner Vargas, Burin, Giugliani, & Coelho, 2001; Jansen, Metternick-Jones, & Lister, 2016). Na intoxicação crônica as manifestações clínicas que podem ser encontradas são atraso progressivo do desenvolvimento, distúrbio comportamental, retardo do crescimento, hipotonia, hipertonia, macrocefalia, microcefalia, epilepsia de difícil controle e alterações oculares (Martins, 2003).

O primeiro passo para definição do diagnóstico é a suspeita clínica. Mas diversos fatores dificultam o diagnóstico de um EIM, como por exemplo, a ausência de sinais e sintomas específicos, o que ocorre na maioria dos casos, baixo conhecimento por parte dos profissionais de saúde, levando assim, a não detecção da doença (Schwartz, Souza, & Giugliani, 2008). Esta não detecção leva cerca de 30% dos EIM a serem diagnosticados erroneamente como anormalidades neurológicas (Souza, Martins, D'Almeida, & Silva, 2007).

A Triagem Urinária (TU) é denominada como triagem simples, onde objetiva-se detectar metabólitos que geralmente não são secretados na urina em um organismo saudável. Caracteriza-se por uma bateria de testes bioquímicos realizados e cromatografia da mesma (Brustolin, 2005). A TU para EIM tem se mostrado válida, pois é de fácil realização, baixo custo, apresentando alta sensibilidade e especificidade, abrangendo alguns testes qualitativos na urina, que são de grande utilidade na detecção de alterações no metabolismo de aminoácidos, carboidratos, ácidos orgânicos, porfirinas e glicosaminoglicanos (Souza *et al.*, 2007; Morava, Rahman, Peters, Baumgartner, Patterson, & Zschocke, 2015).

Testes de triagem qualitativos são utilizados como ponto de partida para a detecção de EIM. Quando há resultados positivos, uma investigação detalhada utilizando testes específicos, é indicada, sendo utilizados como testes confirmatórios (Pampols, 2010).

Muitas crianças são matriculadas em escolas especiais com algum distúrbio mental ou deficiência física sem causa definida para o diagnóstico. Muitos desses distúrbios podem ser causados por EIM. Mas, para a confirmação do diagnóstico de tais erros inatos, há uma grande dificuldade, devido ao fato dos exames de detecção serem de difícil acesso para a maioria da população e por falta de conhecimento de muitos profissionais de saúde.

A realização da triagem urinária serve como ponte para o acesso aos testes específicos de diagnóstico, pois com ela é possível detectar a presença de substâncias específicas, características de alguns EIM que normalmente são apresentadas na urina. A execução da TU na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Itabira (APAE/Itabira), aumenta a chance de identificar, os pacientes que não possuem diagnóstico fechado que apresentam alguma ligação com EIM, possibilitando assim, o envio de amostras positivas para centros especializados que possam realizar um estudo mais detalhado, dando a chance de melhorar a qualidade de vida do aluno e informar aos familiares o diagnóstico correto.

Diante deste contexto o objetivo deste estudo é apresentar os resultados da triagem urinária realizada nos alunos sem diagnóstico matriculados na APAE/Itabira na tentativa de identificar Erros Inatos do Metabolismo e levantar os principais sinais clínicos sugestivos de erros inatos.

2. Metodologia

A presente estudo apresenta um caráter quantitativo e descritivo. A pesquisa descritiva, de acordo com Barros e Lehfeld (2000, p.70) tem como objetivo primordial a descrição das características de determinada população ou elemento, ou então, o estabelecimento de relações entre variáveis. A abordagem quantitativa caracteriza-se pelo uso da quantificação tanto na coleta quanto no tratamento das informações por meio de técnicas estatísticas (Marconi & Lakatos, 2002).

2.1 Caracterização da Amostra

Foi realizada a coleta de amostras de urina de alunos Portadores de Necessidades Especiais da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais – APAE/Itabira sem diagnóstico estabelecido no prontuário, mas apresentando sinais clínicos sugestivos de algum EIM. Este foi o critério utilizado para seleção dos alunos para participar do estudo. A coleta foi realizada durante o segundo semestre de 2012. A partir de dados fornecidos pela secretaria da instituição, foram analisadas amostras de 38 alunos. Fizeram parte da amostra alunos de ambos os sexos e sem idade específica. A participação no estudo foi autorizada mediante a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado pelos pais ou responsáveis do aluno. A pesquisa foi realizada após parecer de aprovado pelo Comitê de Ética Hospital Vera Cruz, folha de rosto número 446807.

2.2 Procedimento para Obtenção de Dados

A amostra de urina foi coletada em um frasco estéril, nas dependências da APAE/Itabira, pelos técnicos responsáveis pelo acompanhamento do aluno, sendo imediatamente identificada e armazenada em freezer para preservação da amostra. Foram realizados 8 testes qualitativos presentes no protocolo utilizado pelo Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal do Pará (LEIM/UFPA), tendo como referência os trabalhos de Buist (1968) e Thomas e Howell (1973). Para cada teste, com exceção do teste de Erlich, foi utilizado uma amostra de urina positiva (controle positivo), para o controle de qualidade dos reagentes, e também para facilitar a interpretação dos resultados, com o objetivo de evitar resultados falsos/positivos e falsos/negativos. Os teste foram realizados no Laboratório de Química Geral da Faculdade de Ciências Administrativas e Contábeis de Itabira – FACCI da Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira - FUNCESI.

2.3 Análise de Dados

Os resultados dos testes foram analisados de forma qualitativa, pela presença ou ausência de alteração na cor, turvação ou formação de precipitado na amostra, de acordo com a descrição do protocolo. Os resultados foram armazenados em planilhas desenvolvidas no programa Microsoft Excel a fim de facilitar a interpretação dos resultados positivos e negativos para cada teste. Em seguida foi realizada uma análise quantitativa utilizando frequência relativa e absoluta da estatística descritiva simples. Os resultados quantitativos

foram expressos em tabelas e a interpretação qualitativa dos testes foram fotografados, para facilitar interpretações de outros estudos.

3 Resultados e Discussão

3.1 Caracterização das amostras

Foram analisadas amostras de 38 alunos, sendo 29 (76%) do sexo masculino e 09 (24%) feminino com idade média de 33 anos (idade mínima 7 anos e máxima de 61 anos).

3.2 Resultado da triagem urinária

As amostras foram analisadas de forma qualitativa, foi observado a formação de precipitados, mudança na coloração e turvação de acordo com protocolo após a reação química. Foram realizados oito testes, para sete foram utilizadas amostras de urina para controle positivo: reação de Benedict, Brometo de Cetil-trimetil-amônio (BCTMA), Cloreto Férrico, Dinitrofenilhidrazina (DNFH), Nitrosonaftol, Para-nitroanilina e Cianeto de nitroprussiato (FIG. 1). As amostras de urina para controle positivo foram cedidas pelo Laboratório de EIM/UFMG. Para a reação de Erlich não foi feito o controle positivo, pois é necessária amostra positiva para Porfíria, não disponível no laboratório de EIM/UFMG.

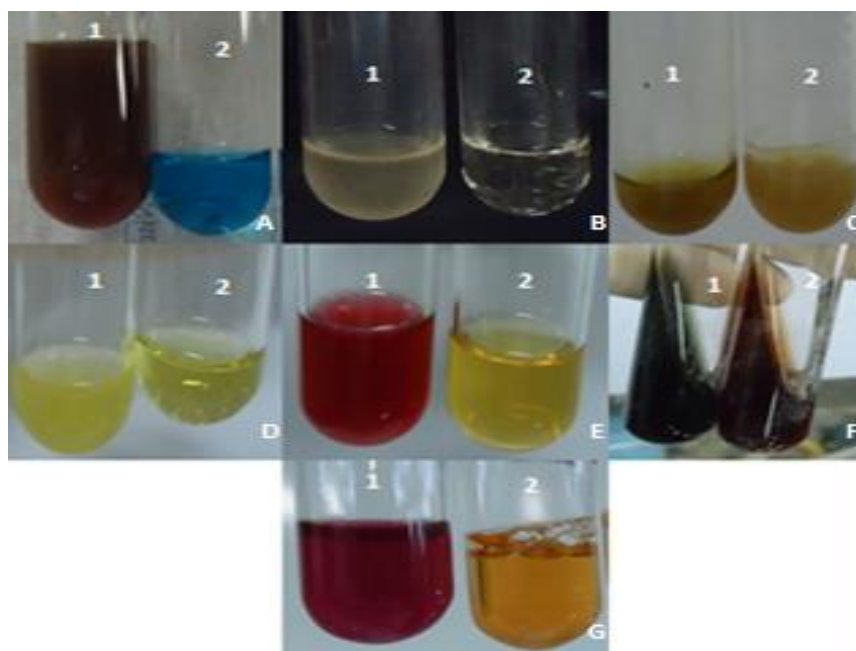


FIG. 1- Amostras de urina para controle positivo. (1) Amostra positiva; (2) Amostra negativa. (A) Reação de Benedict; (B) Reação de BCTMA; (C) Reação de Cloreto férrico; (D) Reação de Dinitrofenilhidrazina; (E) Reação de Nitrosonaftol; (F) Reação de Para-nitroanilina; (G) Reação de Cianeto de nitroprussiato.

Fonte: Dados do presente estudo. Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

A figura 1 chama atenção para a interpretação do resultado qualitativo dos testes realizados. A imagem do tubo 1, de cada imagem, demonstra a interpretação do resultado positivo do teste em questão, seja pela alteração de cor (Reação de Benedict: verde com ou sem precipitado, amarelo, marrom ou vermelho; Reação de Cloreto férrico: verde; Reação de Nitrosonaftol: cereja; Reação de Para-nitroanilina: verde e Reação de Cianeto de nitroprussiato: cor de vinho) ou precipitado (Reação de BCTMA: turvação e precipitação; Reação de Dinitrofenilhidrazina: precipitado amarelo ou branco amarelado). O tubo 2, de cada imagem, demonstra resultados negativos. Em alguns resultados declara-se duvidoso, pelo proximidade com a alteração observada no resultado positivo. A interpretação qualitativa correta da triagem urinária é de grande importância para suspeita e identificação do EIM.

Durante a triagem foram observados 11 resultados positivos, 15 resultados duvidosos e 279 resultados negativos, totalizando 18 alunos com resultados alterados, sendo que um aluno apresentou alteração em mais de um teste realizado (TAB. 1). Dentre as amostras alteradas houve 13 (72%) do sexo masculino e cinco (28%) do sexo.

Tabela 1 - Resultado da Triagem Urinária na APAE/Itabira

Teste	Positivo	(%)	Duvidoso	(%)	Negativo	(%)
Benedict	5	13%	0	-	33	87%
Brometo de CTMA	1	3%	4	10%	33	87%
Cloreto Férrico	4	11%	7	18%	27	71%
Dinitrofenilhidrazina	1	3%	1	3%	36	95%
Nitrosonaftol	0	-	3	8%	35	92%
Erlich	0	-	0	-	38	100%
Para-nitroanilina	0	-	0	-	38	100%
Cianeto de Nitroprussiato	0	-	0	-	38	100%
Total	11	4%	15	5%	279	91%

Fonte: Dados do presente estudo. Elaborada pelo autor.

As imagens a seguir (FIG. 2 – 6) demonstram os resultados positivos e duvidosos encontrados na triagem urinária dos alunos da APAE/Itabira.

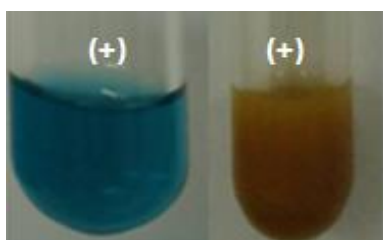


Figura 2 - Reação para Benedict. (+) Resultado positivo.

Fonte: Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

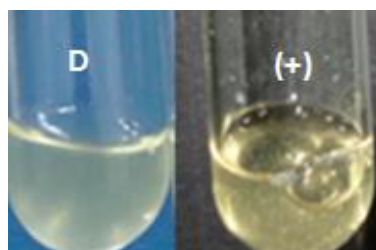


Figura 3 - Reação para BCTMA. (D) Resultado duvidoso; (+) Resultado positivo.

Fonte: Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

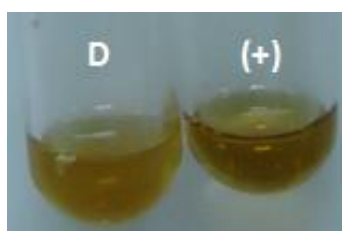


Figura 4 - Reação para cloreto férrico (D) Resultado duvidoso. (+) Resultado positivo.

Fonte: Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

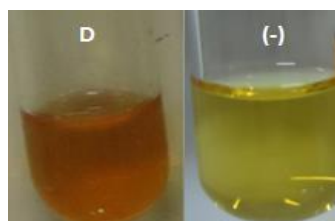


Figura 5 - Reação para Nitrosonaftol. (D) Resultado duvidoso. (-) Resultado negativo.

Fonte: Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

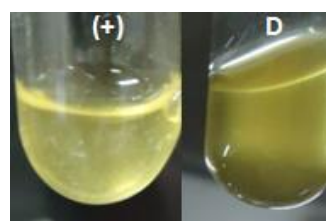


Figura 6 - Reação para DNFH. (+) Resultado positivo. (D) Resultado duvidoso.

Fonte: Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

A figura 2 demonstra o resultado positivo para reação de Benedict com a presença da coloração verde claro e marrom. A figura 3 mostra a formação de precipitado, no resultado positivo e uma turvação (resultado duvidoso) que caracteriza uma possível alteração no teste. Na figura 4, a coloração verde, é característica de resultado positivo para reação de cloreto férrico. Na figura 5 uma coloração que assemelha com o resultado positivo (cereja), demonstra um resultado duvidoso. E o teste de dinitrofenilhidrazina (DNFH), na figura 6, demonstra o resultado positivo com a formação de precipitado branco amarelado. Estes resultados somados as características clínicas dos alunos, são importantes para o direcionamento de um diagnóstico correto.

Foi realizado o teste de Azul de toluidina para todas as amostras que apresentaram algum tipo de alteração no teste de BCTMA durante a triagem, pois é um teste considerável mais preciso para a confirmação de mucopolissacaridose (MPS), comumente detectada por este teste. Todas as amostras foram negativas para o teste de Azul de Toluidina (FIG.7).

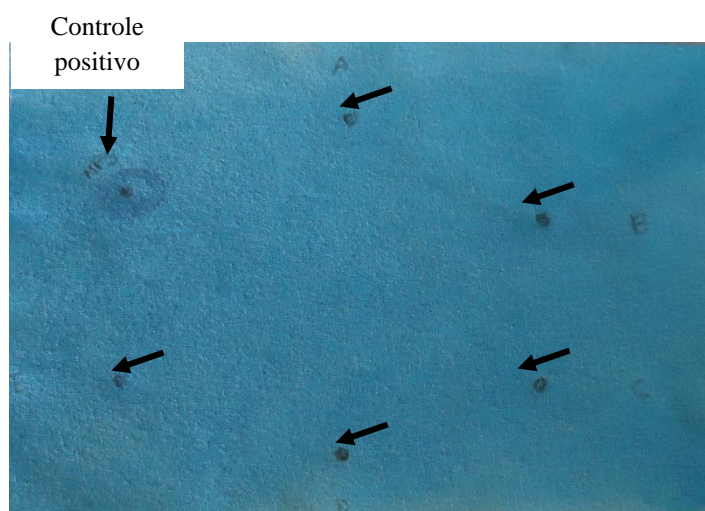


Figura 7 - Teste para Azul de Toluidina. Amostra de urina usada como controle positivo, presença de uma mancha azul escura. Demais marcações amostras alteradas para BCTMA, resultado negativo. Fonte: Dados do presente estudo. Fotografia retirada e elaborada pelo autor.

No resultado do teste de Azul de toluidina, foi observado a ausência de uma coloração púrpura metacromática (halo) no local onde a urina foi aplicada, em comparação ao controle positivo utilizado (urina de um paciente com diagnóstico de MPS). Esse resultado auxilia a excluir a suspeita de MPS nos alunos que apresentaram alteração no teste BCTMA.

3.3 Características clínicas dos alunos triados

O primeiro passo para se suspeitar da presença de algum EIM é a presença de sinais e sintomas característicos de doenças metabólicas. O presente estudo utilizou para a seleção dos alunos triados, aqueles que além de não possuir um diagnóstico conclusivo, também apresentarem sinais clínicos característicos de EIM. A tabela 2 apresenta as características

clínicas de todos os alunos triados. Já a tabela 3 apresenta a sintomatologia dos 18 alunos que apresentaram alguma alteração nos testes da TU.

Tabela 2 - Características clínicas dos alunos triados na APAE/Itabira

Características clínicas	Quantidade de alunos	(%)
Deficiência mental leve	16	42%
Deficiência mental moderada	19	50%
Deficiência mental grave	1	3%
Convulsão	6	16%
Epilepsia	9	24%
ADNPM	14	37%
Consanguinidade	2	5%
Alterações oculares	5	13%
Deficiência auditiva	2	5%

OBS: Porcentagem sobre n=38. Fonte: dados do presente estudo, elaborado pelo autor.

No resultado apresentado na tabela 2 foi observado que os alunos sem diagnóstico na APAE de Itabira, que participaram do estudo, apresentaram características clínicas sugestivas de EIM que comumente são encontradas em pacientes já diagnosticados, como: deficiência mental moderada e leve (50% e 42% respectivamente), atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) (37%) e epilepsia (24%), dentre outras características. Embora exista a ausência de sinais e sintomas específicos para cada EIM, a característica clínica é o primeiro passo de um “quebra cabeça” para definição do diagnóstico.

Tabela 3 - Características clínicas dos alunos com alguma alteração na TU

Características clínicas	Quantidade de alunos	(%)
Deficiência mental leve	6	33%
Deficiência mental moderada	9	50%
Deficiência mental grave	1	5%
Convulsão	5	28%
Epilepsia	7	39%
ADNPM	13	72%

Consanguinidade	2	11%
Alterações oculares	4	22%
Deficiência auditiva	1	5%

OBS: Porcentagem sobre n=18. Fonte: dados do presente estudo, elaborado pelo autor.

Na tabela 3 foi observado que os alunos que apresentaram alteração em um ou mais testes da triagem urinária apresentaram características clínicas de EIM (ADNPM, deficiência mental, epilepsia, convulsão, consanguinidade) que podem ter ocorrido, pela falta de diagnóstico precoce. Os dados clínicos, aliado ao resultado da triagem, reforça a necessidade de testes mais específicos para um diagnóstico preciso. A heterogeneidade de sinais clínicos entre o grande número de doenças que fazem parte dos EIM, destaca a importância de um estudo que realiza um trabalho de triagem, para facilitar o processo de busca do diagnóstico.

A TU é um método de fácil realização e baixo custo. Devido a sua especificidade, é um indicativo importante para a investigação de algum EIM, facilitando e reduzindo o tempo de diagnóstico. O número de amostras analisadas no presente estudo, 76% do sexo masculino e 24% do sexo feminino, é compatível com os percentuais observados na literatura. Nos estudos realizados por Romão *et al.* (2017), Amâncio, Scalco e Coelho (2007), Sanseverino, Wajner e Giugliani (2000) e Oliveira *et al.* (2001) também foi encontrado o número de pacientes do sexo masculino (62,5%, 58%, 60,9% e 59,4% respectivamente) maior que o número de pacientes do sexo feminino (37,5%, 42%, 39,1% e 40,6% respectivamente). Provavelmente essa diferença possa estar relacionada com ocorrência de alguns EIM com herança ligado ao cromossomo X (Kim, Albano, & Bertola, 2010).

No presente estudo foram encontrados resultados positivos (4%), duvidosos (5%) e negativos (91%). No estudo de Souza *et al.* (2007) foram obtidos resultados positivos (52,8%), duvidosos (15,2%) e negativos (32%). Provavelmente este resultado pode ser explicado pelo tamanho amostral analisado em cada pesquisa, sendo que no estudo citado foram analisados 197 pacientes, enquanto na presente pesquisa foram analisados 38 alunos.

Nota-se que entre os resultados alterados apresentados há presença de testes específicos para aminoacidopatias, alterações no metabolismo de açúcares redutores, doenças de depósito lisossomal e acidemias orgânicas. Estas são as doenças mais encontradas durante a TU, como mostra o estudo de Oliveira *et al.* (2001) e Amâncio *et al.* (2007), que encontraram para o teste de Benedict (8,9%), nitrosonaftol (29,7%) e brometo de CTMA (19,8%) as maiores frequências dentre os pacientes.

O teste de Brometo de cetil-trimetilamônio (BCTMA) é utilizado para o diagnóstico de mucopolissacaridose (MPS) e outras doenças. Para BCTMA foram encontrados os

seguintes resultados: uma (3%) amostra positiva, quatro (10%) duvidosas e 33 (87%) negativas, sendo que, todos que apresentaram resultados alterados foram testados novamente. Para confirmação da presença de algum tipo de MPS é realizado o teste de Azul de toluidina, que é específico para a detecção de glicosaminoglicanos (GAG) liberados na urina, o que não ocorre de forma normal (Viana, Pará, Pimentel Souza, & Santana-Da-Silva, 2010). A detecção é realizada através da reação entre o azul de toluidina e o composto em excesso, formando uma mancha azul escuro no papel filtro que não é retirada pelo ácido acético (Wajner *et al.*, 2001). Nenhuma das amostras apresentou positiva para este teste. No estudo apresentado por Oliveira *et al.* (2001), 20 (19,8%) de seus pacientes apresentaram positivos para BCTMA, em contrapartida, somente em um (1%) houve reação positiva para o azul de toluidina, mostrando a importância da confirmação por testes mais específicos. É importante fazer esse teste confirmatório para que haja a eliminação ou confirmação da presença de MPS indicando o caminho que se deve seguir para fechar o diagnóstico do paciente (Righetto, Turcato, Anselmo, Jotha, Santos, & Garcia, 2010).

A reação de cloreto férrico é um teste utilizado para detecção da Fenilcetonúria (PKU), na qual é o EIM mais comumente encontrado. A doença ocorre pela não metabolização da fenilalanina em tirosina, sendo acumulada no organismo e metabolizada por vias secundárias em fenilpiruvato, que é uma substância nociva ao tecido do sistema nervoso central (Zschocke, 2003). Enquanto há a formação do piruvato, outro substrato é formado e liberado pela urina, o ácido fenilpirúvico. Este substrato reage com o cloreto férrico formando uma coloração esverdeada. A incidência mundial da PKU no Brasil é de 1:12 a 15 mil nascidos vivos (Monteiro & Cândido, 2006). No presente estudo foi observado que 11 (29%) alunos apresentaram resultados alterados para o teste de cloreto férrico, onde quatro (11%) obtiveram resultado positivo e sete (18%) resultado duvidoso. O estudo de Righetto *et al.* (2010) apresentou resultado semelhante com 32% dos resultados com diagnóstico de PKU, no hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

A reação para Benedict faz a triagem para açúcares redutores, sendo usado como indicativo diagnóstico de galactosemia. A galactosemia ocorre por anormalidades enzimáticas e a galactose fica acumulada no corpo, ocorre uma reação que não aconteceria normalmente. Essa reação se dá pela conversão forçada de galactose em galactitol, um poliálcool de toxicidade elevada, ou em galactonato, que também é um produto tóxico. O Brasil é o país com a segunda maior incidência de galactosemia clássica do mundo, com um caso a cada 20 mil pessoas (Broomfield *et al.*, 2015). Oliveira *et al.* (2001) obteve em seu estudo 8,9% de resultados positivos para Benedict, resultado próximo do encontrado no presente estudo

(13%). Righetto *et al.* (2010) observou 8% de resultado positivo para galactosemia, demonstrando a importância de se investigar essa patologia.

A reação para dinitrofenilhidrazina é utilizada para pesquisa da doença do xarope de bordo, causada pela deficiência da atividade do complexo da desidrogenase dos α -ceto-ácidos de cadeia ramificada dependente de tiamina (CACR). A consequência é o aumento nos fluidos fisiológicos dos aminoácidos de cadeia ramificada leucina, valina e isoleucina, afetando principalmente o sistema nervoso central. Também é usado para detecção de algumas acidúrias orgânicas e aminoacidopatias (Valadares *et al.*, 2010). A TU do presente estudo foi encontrado 6% dos resultados alterados, sendo 3% positivo e 3% duvidoso. No estudo de Amâncio *et al.* (2007) foi observado um caso de doença do xarope do bordo em 905 pacientes triados. Essa patologia é considerada um defeito muito raro com incidência mundial estimada em 1:185.000 nascidos vivos, sendo que no Brasil não existe dados sobre sua incidência (Herber *et al.*, 2012).

A reação para nitrosonaftol é mais específica para tirosinemias, sendo utilizada para detecção de outras doenças. O estudo apresentado por Oliveira *et al.* (2001) apresentou 29,7% dos resultados positivo para nitrosonaftol, de acordo com seu número, considerando possíveis falso-positivos. No presente estudo foi observado 8% dos resultados como duvidoso para tal teste, o que pode ser justificado pela diferença do tamanho amostral (n=101 e n=38, respectivamente).

Antes da realizar da TU foi realizada a consulta dos prontuários dos alunos sem diagnóstico, a fim de encontrar características clínicas indicativas de algum EIM. Observou-se que 50% dos pacientes analisados apresentam deficiência mental moderada e 42% possuem deficiência mental leve. De acordo com Araújo (2004) pacientes que possuem comprometimento mental, alguma manifestação psiquiátrica ou alteração psicológica podem se encontrar algum tipo de EIM. Nos resultados obtidos pela triagem observou que entre os alunos alterados 33% possui deficiência mental leve e 50% possui deficiência mental moderada.

Dentre as características clínicas de importante relevância clínica observa-se a presença de convulsão em todos os pacientes. A incidência é de seis alunos em trinta e oito analisados, o que corresponde a 16%. Nota-se que cinco dos dezoito alunos alterados apresentam esse sintoma, correspondendo 30%. No estudo apresentado por Souza *et al.* (2007) houve a prevalência de 59%. No estudo de Ramão *et al.* (2017) 29% dos pacientes apresentaram quadro de convulsão, com destaque para os casos relacionados a acidemias

orgânicas. A ocorrência desta manifestação clínica em pacientes com algum EIM é frequente acometendo 24% dos erros inatos diagnosticados (Ramão *et al.*, 2017).

A epilepsia está presente em nove dos pacientes triados, correspondendo a 24% no total. Nos alunos alterados está presente em sete o que representa a 39%.

O atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) nos alunos triados representa 37% (n= 14). Já nos alunos alterados há a frequência de 72%. No estudo de Ramão *et al.* (2017) a apresentação clínica mais comum dos pacientes encaminhados para investigação de EIM foi o ADNPM (50% da amostra), resultado semelhante ao presente estudo. Araújo (2004) cita que alterações no desenvolvimento neuropsicomotor e regressão motora são sinais que geralmente são encontrados nos setores de psiquiatria e neurologia. No estudo de Sanseverino *et al.* (2000) as alterações neurológicas agudas motivaram a investigação metabólica de 47,8% dos pacientes e estavam presentes em todos os que tiveram o diagnóstico definitivo de um EIM.

No presente estudo 5% possuem caso de consanguinidade na família, fazendo parte do grupo de alunos que apresentaram alterações em seus exames. A consanguinidade é um importante fator a se analisar na investigação de EIM, pois se tem maior probabilidade de se desenvolver alguma patologia (Souza *et al.*, 2007). Na população estudada por Souza *et al.* (2007) houve a prevalência de 7,6% de consanguinidade e no estudo de Ramão *et al.* (2017) a consanguinidade foi identificada em 9,7% dos pacientes.

Foi observado que cinco (13%) dos alunos triados apresentaram alterações oculares, sendo que 4 alunos apresentaram resultado positivo para algum teste da triagem. Souza *et al.* (2007) encontraram esta alteração em 36,55% das crianças analisadas, sendo que 19,79% delas foram positivas para algum teste que compõe o protocolo de triagem urinária. De acordo com Araújo (2004) alterações oculares como movimentos oculares anormais, catarata e retinopatia são sinais que levam a investigação de EIM.

A deficiência auditiva é um sinal importante para suspeita de um erro inato, juntamente com outros citados anteriormente. Dentre os 38 triados somente dois (5%) apresentaram esta característica, sendo que somente um (5%) dentre os 18 alunos com resultado alterado apresentou esta característica clínica.

Para que haja uma interpretação correta dos dados obtidos na análise das amostras, é importante possuir o máximo de informações possível sobre a clínica e hábitos do paciente, como por exemplo, dieta e medicações usadas, que podem interferir no resultado final do teste (Tebani *et al.*, 2016).

4. Considerações finais

O presente trabalho apresenta grande contribuição para pesquisadores que trabalham na investigação diagnóstica de EIM e buscam métodos de baixo custo, fácil realização e com confiabilidade. Esses resultados auxiliam na interpretação qualitativa da triagem urinária e na divulgação de um tema que ainda é pouco conhecido por profissionais da saúde.

O diagnóstico de um EIM é fundamental para um manejo adequado e minimizar sinais e sintomas dos pacientes. Infelizmente na prática muitos fatores contribuem para falta de um diagnóstico precoce.

A triagem urinária é um método com características que facilita a investigação de pacientes sem diagnóstico que apresentam sinais clínicos sugestivos de EIM. A triagem mostrou-se satisfatória na busca de EIM nos alunos sem diagnóstico na APAE de Itabira.

O resultado da triagem fornece subsídios para direcionar pacientes aos locais onde é realizado testes específicos para um diagnóstico correto e também refletirá no aconselhamento genético da família, que inclui o planejamento de gestações futuras diante do risco de recorrência.

Referências

- Araújo, A. P. Q. C. (2004). Doenças metabólicas com manifestações psiquiátricas. *Revista de Psiquiatria Clínica*. [S.l.] p. 285-289.
- Amâncio, F.A.M., Scalco, F.B., & Coelho, C.A.R. (2007). Investigação diagnostic de erros inatos do metabolism em um hospital universitário. *J Bras Patol Med Lab*. v. 43. n. 3. p. 169-174.
- Barros, A. J. S., & Lehlfed, N. A. S. (2000). Fundamentos de Metodologia Científica: Um Guia para a Iniciação Científica. 2 ed. ampliada. São Paulo: *Person Education do Brasil*.
- Broomfield, A., Brain, C., Grunewald, S. (2015). Galactosaemia: diagnosis, management and long-term outcome. In Symposium: Inborn Errors Of Metabolism. *Paediatrics And Child Health*. 25(3):113-118.
- Brustolin, S. (2005). Avaliação de um serviço pioneiro de informações sobre erros inatos no metabolismo no Brasil. 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Pediatria) - *Programa de Pós-graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre.
- Buist, H. (1968). Set of simples ide-room tests for detection of inborn erros of metabolismo. *British Med. J*; 2:745-49.

Garrod, A. E. (2002). The Incidence of Alkaptonuria: A Study in Chemical Individuality. *Yale Journal of Biology and Medicine*. Yale. v. 75, p.. 221-231.

Herber, S., Schwartz, I. V. D., Nalinc, T., Netto, C. B. O., Junior, J. S. C., Santos, M. L., Ribeiro, E. M., Schüler-Faccini, L., & Souza, C. F. M. (2015). Maple Syrup Urine Disease In Brazil: A Panorama Of The Last Two Decades. *Jornal De Pediatria*. Volume 91, Issue 3, May–June, 292-298.

Jansen, M. E., Metternick-Jones, S. C., & Lister, K. J. (2016). International differences in the evaluation of conditions for newborn bloodspot screening: a review of scientific literature and policy documents. *Eur J Hum Genet*. 25:10-6.

Kim, C. A., Albano, L. M., & Bertola, D. R. (2010). Genética na prática pediátrica. São Paulo: *Manole*.

Levy, P. A. (2009). Inborn Errors of Metabolism: Part 1: Overview. *Pediatr Rev*. 30:131-7.

Marconi, M. A., & Lakatos, E. M. (2002). Técnicas de Pesquisa. 5. ed. São Paulo: Atlas.

Martins, A. M. (2003). Erros Inatos do Metabolismo. Abordagem Clínica. Colaboração [de] Micheleti C., D'almeida V., & Frangipani, B. J. São Paulo. 2. ed. p. 5-32.

Morava, E., Rahman, S., Peters, V., Baumgartner, M. R., Patterson, M., & Zschocke, J. (2015). Quo vadis: the re-definition of "inborn metabolic diseases". *J Inherit Metab Dis*. 38:1003–6.

Monteiro, L. T. B., & Cândido, L. M. B. (2006). Fenilcetonúria no Brasil: evolução e casos. *Rev. Nutr.*, Campinas, 19(3):381-387, maio/jun.

Oliveira, A. C., Santos, A. M. N., Martins A. M., & D'Almeida V. (2001) Screening for inborn errors of metabolism among newborns with metabolic disturbance and/or neurological manifestations without determined cause. *Revista Paulista de Medicina*. São Paulo. p. 160-164.

Pampols, T. (2010). Inherited metabolic rare disease. *Adv Exp Med Biol*. 686:397–431.

Righetto, A. L., Turcato, M. F., Anselmo, J. N., Jotha, M. C., Santos, C. D., & Garcia, D. F. (2010). Erros inatos do metabolismo confirmados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-SP no período de 2000 a 2008. *Medicina (Ribeiro Preto)*. 43:419-26.

Romão, A., Simon, P. E. A., Góes, J. E. C., Pinto, L. L. C., Giugliani, R., Luca, G. R., & Carvalho, F. L. C. (2017). Apresentação clínica inicial dos casos de erros inatos do metabolismo de um hospital pediátrico de referência: ainda um desafio diagnóstico. *Rev Paul Pediatr*. 35(3):258-264.

Sanseverino, M. T. V., Wajner, M., & Giugliani, R. (2000). Aplicação de um protocolo clínico-laboratorial para identificação de erros inatos do metabolismo em crianças gravemente enfermas. *Jornal de Pediatria*. Porto Alegre. v. 76, n. 5, p. 375-382.

Saudubray, J. M., & Charpentier, C. (1995). Clinical Phenotypes: Diagnosis/Algorithms. In: VALLE, D. *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases (OMMBID)*. [S.l.:s.n.]. [20-?]. Chapter 66. Disponível em: <www.ommid.com/OMMID/the_online_metabolic_and_molecular_bases_of_inherited_disease/b/abstract/part6/ch66>.

Schwartz, I.V., Souza, C. F. M., & Giugliani, R. (2008). Treatment of inborn errors of metabolism. *Jornal de Pediatria*. Rio de Janeiro. v. 84. n. 4. S8-S19.

Souza, C. N., Martins A. M., D'Almeida V., & Silva L. C. S. (2007) Triagem urinária para erros inatos do metabolismo em crianças com atraso no desenvolvimento. *Revista Paraense de Medicina*. Belém. v. 21. n. 2. p. 23-28. Abril-junho.

Souza, C. F. M., Schwartz, I. V.; & Giugliani, R. (2002). Triagem neonatal de distúrbios metabólicos. *Ciência & Saúde Coletiva*. Porto Alegre. v. 7, n. 1, p. 129-137.

Tebani, A., Abily-Donval, L., Afonso, C., Marret, S., & Bekri, S. (2016). Clinical metabolomics: the new metabolic window for inborn errors of metabolism investigations in the post-genomic era. *Int J Mol Sci*. 17:E1167.

Thomas, G. H., & Howell, R. R. (1973). Selected screening tests for genetic metabolic diseases. Chicago. *Year Book Medical Publishers Inc*. pag 19.

Valadares, E. R., Oliveira, J. S., & Tálamo, L. E. P. (2010). Tratamento metabólico da doença da urina do xarope de bordo. *Rev Med Minas Gerais*. 20(2): 255-258.

Viana, G. M., Pará C. B. P. R., Pimentel C. P., Souza I. C. N., & Santana-Da-Silva L. C. (2010). Implantação de um protocolo laboratorial para o diagnóstico de Mucopolissacaridoses VI e VII. *RBAC*. [S.l.] v. 42. n. 2. p. 83-85.

Zschocke, J. (2003). Phenylketonuria Mutations in europeu. *Wiley Online Library*, S.l. n. 21. P. 345-356.

Wajner, M. (2001). Vargas C. R., Burin M., Giugliani R., & Coelho J. C. (2001) Investigação de erros inatos do metabolismo. *Revista HCPA*. Porto Alegre. n. 3. p. 343-360.

Waters, D., Adeloje, D., Woolham, D., Wastnedge, E., Patel, S., & Rudan I. (2018). Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *J Glob Health*. Dec;8(2):021102.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Serena Dáfne do Carmo Silva - 40%

Fernanda Cristina Miranda Santos Rodrigues - 30%

Brenda de Oliveira da Silva - 30%