



ARTIGO ORIGINAL

## Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil<sup>☆,☆☆</sup>



Marília Pyles Patto Kanegae<sup>a</sup>, Lucila Akune Barreiros<sup>a</sup>,  
Juliana Themudo Lessa Mazzucchelli<sup>b</sup>, Sonia Marchezi Hadachi<sup>c</sup>,  
Laura Maria de Figueiredo Ferreira Guilhoto<sup>c</sup>, Ana Lúcia Acquesta<sup>d</sup>,  
Isabel Rugue Genov<sup>b,e</sup>, Sílvia Maia Holanda<sup>f</sup>, Regina Sumiko Watanabe Di Gesu<sup>g</sup>,  
Ana Lucia Goulart<sup>b</sup>, Amélia Miyashiro Nunes dos Santos<sup>b</sup>, Newton Bellesi<sup>h</sup>,  
Beatriz Tavares Costa-Carvalho<sup>b</sup> e Antonio Condino-Neto<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil

<sup>c</sup> Apae-SP, São Paulo, SP, Brasil

<sup>d</sup> Hospital Geral de Pirajussara, São Paulo, SP, Brasil

<sup>e</sup> Hospital Pimentas Bonsucesso, Guarulhos, SP, Brasil

<sup>f</sup> Amparo Maternal, São Paulo, SP, Brasil

<sup>g</sup> Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>h</sup> Clínica de Medicina Preventiva do Pará (Climep), Belém, PA, Brasil

Recebido em 1 de julho de 2015; aceito em 5 de outubro de 2015

### KEYWORDS

SCID;  
Neonatal screening;  
TRECs;  
T lymphocytes;  
Combined immunodeficiency;  
Primary immunodeficiency

### Abstract

**Objective:** To apply, in Brazil, the T-cell receptor excision circles (TRECs) quantification technique using real-time PCR in newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID) and assess the feasibility of implementing it on a large scale in Brazil.

**Methods:** 8715 newborn blood samples were collected on paper filter and, after DNA elution, TRECs were quantified by real-time PCR. The cutoff value to determine whether a sample was abnormal was determined by ROC curve analysis, using SSPS.

**Results:** The concentration of TRECs in 8682 samples ranged from 2 to 2181 TRECs/ $\mu$ L of blood, with mean and median of 324 and 259 TRECs/ $\mu$ L, respectively. Forty-nine (0.56%) samples were

DOI se refere ao artigo:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.10.006>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Kanegae MP, Barreiros LA, Mazzucchelli JT, Hadachi SM, Guilhoto LM, Acquesta AL, et al. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil. J Pediatr (Rio J). 2016;92:374–80.

<sup>☆☆</sup> Este trabalho está vinculado ao Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [condino@icb.usp.br](mailto:condino@icb.usp.br) (A. Condino-Neto).

**PALAVRAS-CHAVE**

SCID;  
 Triagem neonatal;  
 TRECs;  
 Linfócitos T;  
 Imunodeficiência  
 combinada;  
 Imunodeficiência  
 primária

below the cutoff (30 TRECs/ $\mu$ L) and were reanalyzed. Four (0.05%) samples had abnormal results (between 16 and 29 TRECs/ $\mu$ L). Samples from patients previously identified as having SCID or DiGeorge syndrome were used to validate the assay and all of them showed TRECs below the cutoff. Preterm infants had lower levels of TRECs than full-term neonates. The ROC curve showed a cutoff of 26 TRECs/ $\mu$ L, with 100% sensitivity for detecting SCID. Using this value, retest and referral rates were 0.43% (37 samples) and 0.03% (3 samples), respectively.

**Conclusion:** The technique is reliable and can be applied on a large scale after the training of technical teams throughout Brazil

© 2016 Published by Elsevier Editora Ltda. on behalf of Sociedade Brasileira de Pediatria. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Triagem neonatal para imunodeficiência combinada grave no Brasil****Resumo**

**Objetivo:** Aplicar no Brasil a técnica de quantificação de *T-cell Receptor Excision Circles* (TRECs) por PCR em tempo real para triagem neonatal de imunodeficiência combinada grave (SCID) e avaliar se é possível fazê-la em grande escala em nosso país.

**Métodos:** Foram coletadas em papel filtro 8.715 amostras de sangue de recém-nascidos e, após eluição do DNA, os TRECs foram quantificados por PCR em tempo real. O valor de corte para determinar se uma amostra é anormal foi determinado pela análise de curva ROC com o programa SSPS.

**Resultados:** A concentração de TRECs em 8.682 amostras analisadas variou entre 2 e 2.181 TRECs/ $\mu$ L de sangue, com média e mediana de 324 e 259 TRECs/ $\mu$ L, respectivamente. Das amostras, 49 (0,56%) ficaram abaixo do valor de corte (30 TRECs/ $\mu$ L) e foram requantificadas. Quatro (0,05%) mantiveram resultados anormais (entre 16 e 29 TRECs/ $\mu$ L). Amostras de pacientes com diagnóstico clínico prévio de SCID e síndrome de DiGeorge foram usadas para validar o ensaio e todas apresentaram concentração de TRECs abaixo do valor de corte. Recém-nascidos prematuros apresentaram menores níveis de TRECs comparados com os nascidos a termo. Com o uso da curva ROC em nossos dados, chegamos ao valor de corte de 26 TRECs/ $\mu$ L, com sensibilidade de 100% para detecção de SCID. Com o uso desse valor, as taxas de repetição e encaminhamento ficaram em 0,43% (37 amostras) e 0,03% (3 amostras), respectivamente.

**Conclusão:** A técnica é factível e pode ser implantada em grande escala, após treinamento técnico das equipes envolvidas.

© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. em nome de Sociedade Brasileira de Pediatria. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introdução**

As imunodeficiências graves combinadas (SCID, do inglês *Severe Combined Immunodeficiency*) são um grupo de doenças heterogêneas caracterizadas por anomalias graves no desenvolvimento e na função de linfócitos T, B e NK. São reconhecidas como emergências pediátricas, pois levam a infecções graves e de repetição e são fatais nos dois primeiros anos de vida se não forem diagnosticadas e tratadas corretamente.<sup>1,2</sup>

Devido à gravidade da doença e à urgência no diagnóstico e tratamento, em 2005, pesquisadores americanos desenvolveram a triagem neonatal (TN) para SCID que consiste na quantificação de TRECs (do inglês *T-Cell Receptor Excision Circles*) por PCR em tempo real (qRT-PCR).<sup>3,4</sup> Os TRECs são pequenos pedaços circulares de DNA formados durante o processamento tímico normal, quando ocorre o rearranjo dos genes do receptor de célula T. Como não se reproduzem durante a divisão celular, funcionam como marcadores para o número de células T *naïve* recentemente

emigradas do timo e que estão diminuídas em todas as formas de SCID.<sup>5</sup>

Na maioria dos casos, a TN é o único meio de se detectarem as SCID antes que as infecções se instalem, uma vez que mais de 80% dos casos não têm história familiar positiva para imunodeficiência primária.<sup>6</sup>

Um número importante alterado após o desenvolvimento da triagem neonatal foi o de incidência da doença. Como muitas crianças vão a óbito antes que o diagnóstico seja feito, estimava-se a incidência da SCID em 0,10/10.000. Com a experiência americana, esse número hoje está próximo de 0,17/10.000 (1:58.000), ou seja, quase o dobro.<sup>6,7</sup>

No Brasil não existe um teste de triagem neonatal para imunodeficiências primárias aplicado à rotina médica, o diagnóstico dessas patologias está muito aquém do desejado.<sup>8-10</sup> Por esse motivo, o objetivo deste trabalho foi aplicar no Brasil a técnica de quantificação de TRECs por qRT-PCR para TN de imunodeficiências combinadas graves e avaliar se é possível aplicá-la em grande escala em nosso país.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4154231>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4154231>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)