

Triagem neonatal para galactosemia

Nº 379

Outubro/2018



produto/procedimento

RELATÓRIO DE RECOMENDAÇÃO



2018 Ministério da Saúde.

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens desta obra é da CONITEC.

Informações:

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos

Esplanada dos Ministérios, Bloco G, Edifício Sede, 8º andar

CEP: 70058-900, Brasília – DF

E-mail: conitec@saude.gov.br

<http://conitec.gov.br>



CONTEXTO

Em 28 de abril de 2011, foi publicada a Lei nº 12.401 que dispõe sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologias em saúde no âmbito do SUS. Esta lei é um marco para o SUS, pois define os critérios e prazos para a incorporação de tecnologias no sistema público de saúde. Define, ainda, que o Ministério da Saúde, assessorado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias – CONITEC, tem como atribuições a incorporação, exclusão ou alteração de novos medicamentos, produtos e procedimentos, bem como a constituição ou alteração de protocolo clínico ou de diretriz terapêutica.

Tendo em vista maior agilidade, transparência e eficiência na análise dos processos de incorporação de tecnologias, a nova legislação fixa o prazo de 180 dias (prorrogáveis por mais 90 dias) para a tomada de decisão, bem como inclui a análise baseada em evidências, levando em consideração aspectos como eficácia, acurácia, efetividade e segurança da tecnologia, além da avaliação econômica comparativa dos benefícios e dos custos em relação às tecnologias já existentes.

A nova lei estabelece a exigência do registro prévio do produto na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para que este possa ser avaliado para a incorporação no SUS.

Para regulamentar a composição, as competências e o funcionamento da CONITEC foi publicado o Decreto nº 7.646 de 21 de dezembro de 2011. A estrutura de funcionamento da CONITEC é composta por dois fóruns: Plenário e Secretaria-Executiva.

O Plenário é o fórum responsável pela emissão de recomendações para assessorar o Ministério da Saúde na incorporação, exclusão ou alteração das tecnologias, no âmbito do SUS, na constituição ou alteração de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas e na atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), instituída pelo Decreto nº 7.508, de 28 de junho de 2011. É composto por treze membros, um representante de cada Secretaria do Ministério da Saúde – sendo o indicado pela Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) o presidente do Plenário – e um representante de cada uma das seguintes instituições: ANVISA, Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, Conselho Nacional de Saúde - CNS, Conselho Nacional de Secretários de Saúde - CONASS, Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde - CONASEMS e Conselho Federal de Medicina - CFM.

Cabem à Secretaria-Executiva – exercida pelo Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde (DGITS/SCTIE) – a gestão e a coordenação das atividades da CONITEC,



bem como a emissão deste relatório final sobre a tecnologia, que leva em consideração as evidências científicas, a avaliação econômica e o impacto da incorporação da tecnologia no SUS.

Todas as recomendações emitidas pelo Plenário são submetidas à consulta pública (CP) pelo prazo de 20 dias, exceto em casos de urgência da matéria, quando a CP terá prazo de 10 dias. As contribuições e sugestões da consulta pública são organizadas e inseridas ao relatório final da CONITEC, que, posteriormente, é encaminhado para o Secretário de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos para a tomada de decisão. O Secretário da SCTIE pode, ainda, solicitar a realização de audiência pública antes da sua decisão.

Para a garantia da disponibilização das tecnologias incorporadas no SUS, o decreto estipula um prazo de 180 dias para a efetivação de sua oferta à população brasileira.



SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	1
1. RESUMO EXECUTIVO.....	1
2. A DOENÇA.....	3
3. A TECNOLOGIA.....	3
4. MÉTODOS.....	3
5. RESULTADOS.....	5
ESTRATÉGIAS DAS BUSCAS INICIAIS E QUE FORAM REPRODUZIDAS.....	5
5.1. ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA.....	6
5.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA.....	7
5.3. MORTALIDADE.....	8
5.4. PROGNÓSTICO EM LONGO PRAZO.....	8
5.5. QUALIDADE DE VIDA.....	9
6. TRATAMENTO.....	13
7. SCREENING & DIAGNÓSTICO.....	14
7.1. DESCRIÇÃO DOS TESTES DIAGNÓSTICOS E PARA RASTREAMENTO.....	14
TAXA DE DETECÇÃO DE TESTES DE RASTREAMENTO.....	18
ACURÁCIA DOS TESTES DE TRIAGEM.....	19
Sensibilidade E Especificidade.....	19
Taxa de falso positivo e valor preditivo positivo.....	19
Falsos negativos do teste.....	19
CUSTO-EFETIVIDADE DA TRIAGEM DE GALACTOSEMIA.....	20
AVALIAÇÃO DA ADEQUAÇÃO DO TESTE PARA RASTREAMENTO DA GALACTOSEMIA AOS CRITÉRIOS PARA RASTREAMENTO POPULACIONAL DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE.....	21
8. RECOMENDAÇÃO DE INCORPORAÇÃO EM OUTROS PAÍSES.....	23
9. DISCUSSÃO.....	23
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
11. RECOMENDAÇÃO INICIAL DA CONITEC.....	26
12. CONSULTA PÚBLICA.....	26
13. RECOMENDAÇÃO FINAL DA CONITEC.....	28
14. DECISÃO.....	28
15. REFERÊNCIAS.....	29



1. RESUMO EXECUTIVO

Tecnologia: Rastreamento diagnóstico de galactosemia em recém-nascidos, no Programa Nacional de Triagem

Neonatal (TNN).

Indicação: galactosemia clássica

Demandante: Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados – Departamento de Atenção Especializada e Temática – Secretaria de Atenção à Saúde – Ministério da Saúde

Contexto: Proposta de incorporação do teste no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Entretanto, atualmente, não há um consenso universal sobre o rastreamento de galactosemia, fundamentalmente por causa das incertezas sobre a razão entre seus riscos e benefícios.

Perguntas: Qual é a história natural, características clínicas, incidência, morbimortalidade, qualidade de vida e tratamento disponível para a galactosemia clássica? O teste de rastreamento é seguro, efetivo e eficiente o suficiente para modificar as condutas e os desfechos imediatos e em longo prazo nos pacientes diagnosticados? Caso afirmativo, a que custo para o Sistema Único de Saúde do Brasil?

Métodos: Realizaram-se duas buscas sistemáticas nas principais bases de dados eletrônicas (PubMed, Embase, Cochrane, etc.) para recuperar informações relevantes sobre a doença e testes de triagem para apoiar a tomada de decisões no Brasil.

Evidências científicas: Todos os 46 estudos identificados que abordaram problemas da doença foram séries retrospectivas de casos ou análises transversais (evidência de nível 4). Os estudos consistentemente relataram que a maioria dos pacientes apresentou sintomatologia característica antes do diagnóstico. Agravos e incapacidades de longo prazo não foram significativamente correlacionados com a idade do diagnóstico, o início da restrição dietética ou a conformidade rigorosa com a dieta. Os cinco estudos que forneceram dados de precisão dos testes diagnósticos usaram diferentes pontos de corte e diferentes testes de verificação e, portanto, diferiram em suas definições de um caso positivo (evidência de nível 3b). A sensibilidade estimada foi de 100% e a especificidade de 99,9%. A taxa de falsos positivos variou de 0,0005% a 0,25%, e o VPP variou de 0% para 64,3%.

Avaliação econômica: Dois estudos apresentaram os resultados de relações entre custos e efeitos. O estudo espanhol estimou o índice incremental de custo-efetividade em €129,46 por ano-de-vida. Entretanto na análise de sensibilidade estimou-se que a probabilidade que um programa PNTN fosse custo-efetivo era inferior a 10%, caso houvesse um limiar de disposição de pagar até €30.000 por ano-de-vida salvo. No Brasil, considerando-se a incidência de 0,01833%, em relação às 59.953 triadas, no modelo de simulação foi projetado taxas observadas de 1:59.953 – 1:19.984 e 1:7.994 aos 600.000 nascimentos anuais, estimando-se poder detectar 10, 30 e 80 casos, respectivamente. Assumindo o custeio para os 30 potenciais casos, e de 20 a 17 casos, que normalmente não trabalhariam, se rastreados na triagem do TNN, poderiam passar a ganhar a mesma produtividade representando o benefício da triagem. A triagem somaria R\$ 937.336,54 e poderia ser contra-balançada (na razão de 1,33) pelos valores dos benefícios. Ambos estudos possuem as mesmas limitações de qualidade que as demais evidências de efeito e segurança.



Experiência Internacional: As recomendações de rastreamento neonatal de GAL variam. Entre os sistemas de saúde públicos, por exemplo, a Suécia e a Alemanha possuem rotina TNPN com GAL; enquanto apenas a metade das províncias/regiões do Canadá possui programa TNPN com rastreamento de GAL; e, no Reino Unido o investimento diagnóstico imediato (1ª. semana de vida) é feito apenas naqueles que se tornam sintomáticos (Broomfield *et al.*, 2015). Os autores salientam, entretanto, consistentemente que os desfechos em longo prazo permanecem nada alentadores.

Discussão: A efetividade clínica comparativa em relação a não rastrear ou à implementação de outros programas é desconhecida. Em resumo, a evidência existente continua a ser insuficiente para estabelecer a adequação do rastreamento de recém-nascidos para rastrear galactosemia, embora benefícios para a saúde podem ser esperados se o diagnóstico e o tratamento precoce (<5dias, entre 3 a 7dias) forem alcançados. Para que o rastreamento PNTN seja implementado no Brasil, seria importante que um programa piloto fosse implementado *a priori* para avaliar a taxa de falsos positivos de maneira representativa, adequar a linha de cuidados e garantir que o diagnóstico precoce não seja retardado.

Recomendação inicial da CONITEC: Os membros da CONITEC presentes na 66ª reunião no dia 10 de maio de 2018 decidiram por unanimidade recomendar de forma preliminar a não incorporação do teste de galactosemia para triagem neonatal no Programa Nacional de Triagem Neonatal (“inclusão no teste do pezinho”). Em função da insuficiência da evidência existente para estabelecer a adequação do rastreamento para galactosemia em recém-nascidos decidiu-se por unanimidade pelo envio da matéria para consulta pública com recomendação inicial desfavorável à incorporação do teste de galactosemia ao Programa Nacional de Triagem Neonatal do SUS.

Consulta pública: A consulta pública número 25, publicada no Diário Oficial da União de 24/05/2018, ficou aberta entre os dias 25/05/2018 e 13/06/2018. Foram recebidas 14 contribuições durante esse período. Dentre as contribuições enviadas 71% (n= 10) se referiram a contribuições de profissionais de saúde e 29% (n= 4) de outros interessados no tema. Entre as 02 contribuições (14%) que testemunharam de concordância parcial com a recomendação da CONITEC, 1 não apresentou sugestões adicionais e a outra apresentou elogios ao Alerta da ANVISA sobre a proibição de produtos diagnósticos que utilizam a enzima MutQ-GDH. Dentre as 12 contribuições que discordaram totalmente da recomendação preliminar da CONITEC, houve 5 (35%) que não apresentaram sugestões adicionais, 1 (7%) que apresentou comentários referente a outra tecnologia diversa e outras 6 tinham comentários substantivos, 4 inclusive com sugestões adicionais: duas delas contribuíram com 2 publicações anexadas, que já haviam sido consideradas no texto, bem como houve 2 citações adicionais, igualmente consideradas em uma das revisões sistemáticas abordadas no texto do Relatório Técnico.

Recomendação final da CONITEC: Após a avaliação das sugestões captadas na consulta pública durante a 69ª reunião, os membros presentes no Plenário da CONITEC deliberaram por unanimidade recomendar a não incorporação do teste de detecção da galactosemia no teste do pezinho para deficiência de galactose-1-P-uridil transferase. Assinou-se o Registro de Deliberação nº 361/2018.

Decisão: Não incorporar o procedimento de detecção da galactosemia no teste do pezinho para deficiência de galactose-1-Puridil transferase, no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS. Dada pela Portaria nº 45 de 31 de outubro de 2018, publicada no Diário Oficial da União nº 210, de 31 de outubro de 2018, seção 1, página 40.



2. A DOENÇA

A galactosemia clássica ou a deficiência de galactose-1-fosfato uridil transferase (GALT) (OMIM230400) é a forma mais comum e grave de galactosemia. Na galactosemia clássica, há deficiência enzimática GALT e galactose-1-fosfato (Gal-1-P) não pode ser convertido em glicose-1-fosfato. Consequentemente, no caso de ingestão de lactose, galactose e metabólitos Gal-1-P acumulam-se no sangue e tecidos. Os neonatos com galactosemia clássica tendem a mostrar dificuldades de alimentação e apresentam manifestações tóxicas gerais durante as primeiras semanas de vida (vômitos e diarreia, perda de peso, icterícia, hepatomegalia e ascite). Se a galactose não for retirada da dieta, a síndrome tóxica pode evoluir e dar origem a complicações com risco de vida, como cirrose, insuficiência hepática ou morte por sepse associada a *Escherichia coli* fulminante.

3. A TECNOLOGIA

O objetivo do rastreamento de rotina em recém-nascidos (“teste do pezinho”, PNTN) é identificar casos de galactosemia antes do início da sintomatologia grave, prevenir a mortalidade e minimizar as incapacidades de longo prazo. No entanto, não existe um consenso universal sobre um PTN para a galactosemia, fundamentalmente devido às incertezas existentes quanto ao equilíbrio entre riscos e benefícios (Jumbo-Lucioni *et al.*, 2012). Atualmente, a inclusão de galactosemia nos painéis de triagem baseia-se principalmente na opinião de especialistas e varia amplamente entre os países. Dentro da Espanha, por exemplo, os PTN diferem mesmo dentro das diferentes Regiões Autônomas (Comunidades Autônomas) do país, suscitando importantes preocupações quanto à equidade de acesso. No Brasil, alguns centros de referência em Doenças Raras propõem/oferecem e realizam a TN com perfil expandido incluindo o teste para galactosemia igualmente suscitando importantes preocupações quanto à equidade de acesso.

4. MÉTODOS

Demandante: A presente revisão sistemática foi solicitada pelo Ministério da Saúde do Brasil para apoiar a tomada de decisão quanto à adequação da inclusão de exame para detecção de galactosemia no PNTN do Sistema Único de Saúde.

Data da solicitação: Novembro de 2017.

O objetivo específico deste estudo foi fornecer informações abrangentes, sistemáticas e transparentes sobre os diferentes aspectos da doença, tratamento e testes de triagem, para determinar o grau em que o teste para detecção de galactosemia cumpre os 18 critérios estabelecidos pelo Documento da Organização Mundial da Saúde, o “Quadro de Critérios para Programas de Avaliação de População” (Wilson & Junger, 1968). Esses critérios, estabelecidos para orientar as tomadas de decisões dentro dos países, estão alinhados com o mandato da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS, a CONITEC. Os critérios de Wilson & Junger (Andermann *et al.*, 2008) são aceitos internacionalmente por diferentes instituições e sistemas de saúde com o objetivo de avaliar a validade e adequação dos programas para triagem populacional. Esta revisão reproduz e atualiza a avaliação realizada pela equipe de avaliação de tecnologias, ATS, da Espanha, em 2014, para o Ministério de Saúde com o mesmo propósito de subsidiar com evidências para decidir sobre uma possível inclusão do teste da galactosemia no PNTN do Sistema Único de Saúde.



TABELA 1. PERGUNTA ESTRUTURADA PARA ELABORAÇÃO DO RELATÓRIO (PICO)

População	Galactosemia clássica.
Intervenção (tecnologia)	Teste de triagem neonatal no Programa Nacional do “teste do pezinho”, PNTN.
Comparação	Sem testes, investimento para educar profissionais e cuidadores envolvidos para o diagnóstico clínico precoce e instauração do tratamento imediato.
Desfechos (Outcomes)	Prevenção dos sintomas neonatais, controle dos eventos adversos neonatais e mortalidade neonatal.
Tipo de estudo	Revisões sistemáticas e avaliações de tecnologias.

Perguntas: Qual é a história natural, características clínicas, incidência, morbimortalidade, qualidade de vida e tratamento disponível para a galactosemia clássica? O teste de rastreamento é seguro, efetivo e eficiente no período neonatal no PNTN o suficiente para modificar as condutas e os desfechos imediatos e em longo prazo nos pacientes diagnosticados? Caso afirmativo, a que custo para o PNTN do Sistema Único de Saúde do Brasil?

Realizaram-se, inicialmente, duas buscas sistemáticas exaustivas na literatura científica nas principais bases de dados bibliográficos científicos eletrônicos (*PubMed, Embase, ISI Web of Knowledge, Tripdatabase, Cochrane Library Plus, Centre for Reviews and Recommendations* da Universidade de York, *ClinicalTrials.gov*, etc.). A primeira, realizada em fevereiro de 2014 pela ATS da Espanha, foi projetada especificamente para recuperar informações sobre a doença (história natural, características clínicas, incidência, morbimortalidade, qualidade de vida, tratamento). A segunda, realizada em maio de 2014, buscou obter informações sobre a eficácia, a relação de custo-efetividade e a acurácia e precisão dos métodos de triagem existentes (taxa de detecção, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo [VPP], valor preditivo negativo [VPN]).

As estratégias de pesquisa foram definidas para cada uma das buscas combinando termos relevantes para cada assunto. Além disso, identificaram-se e pesquisaram-se fontes relevantes da *internet* sobre PNTN e uma revisão manual das referências bibliográficas citadas nos documentos selecionados foi realizada. Os recursos documentais administrativos nacionais e regionais também foram consultados para fins de contextualização deste estudo (além do escopo).

Os documentos potencialmente relevantes foram selecionados por dois revisores independentes de acordo com uma série de critérios de inclusão / exclusão pré-definidos (Fig. 1). Os desentendimentos foram resolvidos por discussão e consenso. Os dados de estudos e pesquisas que atenderam aos critérios de seleção foram coletados em tabelas de evidências pré-estruturadas e discutidos.

O risco de tendências parciais de cada estudo foi avaliado utilizando o instrumento da Colaboração Cochrane para ensaios clínicos randomizados, a ferramenta Cochrane de Avaliação do Risco de Vieses para estudos não aleatorizados, a lista de verificação de avaliação de qualidade do Instituto de Economia da Saúde para séries de casos e a ferramenta QUADAS-2 para estudos de acurácia e precisão diagnóstica. A qualidade da evidência científica foi resumida usando a escala do *Oxford Center for Evidence-Based Medicine (EBM Levels of Evidence Working Group 2011; Phillips et al., 2009 e citados na Diretriz para Elaboração de Pareceres Técnico Científicos do Ministério da Saúde, 2013)*.

Uma abordagem de síntese narrativa foi utilizada para a síntese dos achados, porque não era possível realizar uma metanálise conjunta, posto que os estudos eram muito heterogêneos e de natureza descritiva.



5. RESULTADOS

ESTRATÉGIAS DAS BUSCAS INICIAIS E QUE FORAM REPRODUZIDAS

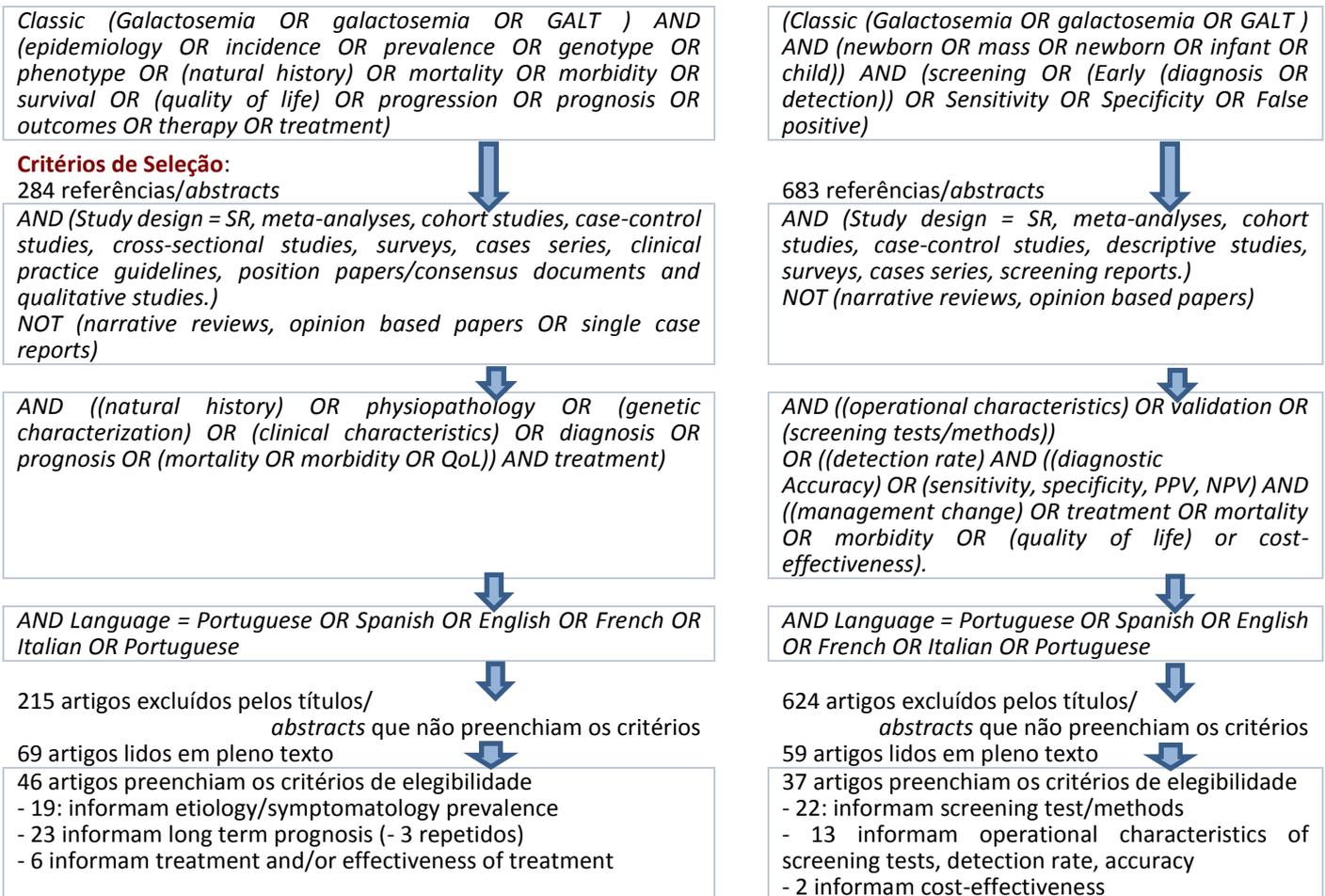


FIG.1 IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DOS ESTUDOS

As duas pesquisas primárias nas bases de dados da literatura biomédica resultaram em 352 e 683 referências bibliográficas, respectivamente. Após uma revisão dos resumos e / ou textos completos, foram incluídos 73 estudos originais: 45 abrangendo aspectos da doença e 36 sobre triagem. O diagrama de fluxo que mostra todo o processo de identificação, seleção e caracterização dos estudos está apresentado na Fig. 1.

Não foram encontrados estudos populacionais com dados prospectivos de acompanhamento longitudinal (*registry*) de pacientes com galactosemia clássica. Todos os 46 estudos em que se avaliou a doença (etiologia, apresentação clínica, prognóstico e tratamento) foram séries retrospectivas de pequeno porte ou análise transversal (evidência de nível 4). Estes relataram dados provenientes de fontes muito heterogêneas (hospitais pediátricos, associações nacionais de rastreamento de galactosemia, centros de triagem, unidades de vigilância, levantamentos) e estavam sujeitos a um alto risco de viés devido às informações faltantes e ao relato seletivo de resultados.

Em vinte e três estudos identificados pela pesquisa foram relatados métodos de triagem existentes (precisão, confiabilidade, reprodutibilidade), e em 15 foram fornecidas informações sobre programas de TN de galactosemia provenientes de relatórios e resultados de pilotos nacionais / regionais. A maioria destes últimos estudos se referiram a



análises descritivas de casos, que não fornecem resultados de precisão do programa de rastreamento. Em apenas seis estudos foram fornecidos dados de sensibilidade e especificidade ou informações suficientes para que esses valores fossem derivados. Nesses estudos foram utilizados diferentes pontos de corte e testes de verificação e, portanto, houve diferença nas definições de um caso positivo (nível 3b). Faltou informação das análises de acompanhamento diagnóstico e / ou clínico para confirmar casos positivos em três estudos e em nenhum dos estudos se incluíram informações de acompanhamento em pelo menos uma proporção dos casos negativos selecionados.

A eficácia clínica comparativa em relação à não triagem ou à implementação de outros programas não foi estudada (programas de vigilância, triagem oportunista). Em dois estudos (Garcia-Pérez *et al.*, 2013 e Camelo *et al.*, 2009) se avaliou a relação de custo-efetividade de incluir o teste para detecção de galactosemia no programa expandido de TN, o primeiro foi espanhol usando espectrometria de massa em *tandem* (MS / MS) e o outro no Brasil usando um modelo de simulação com base em dados dos testes enzimáticos aleatoriamente colhidos em 04 centros de referência do estado de São Paulo (nível 3b).

As 02 revisões sistemáticas, do grupo espanhol (Varela-Lema *et al.*, 2016), até a data de fevereiro de 2016, e da Cochrane (Lak *et al.*, 2018), até a data do fim de outubro de 2017, bem como nossa revisão adicional até final de janeiro de 2018 confirmam a inexistência de evidências de melhor nível, até o presente, que permita justificar a implementação da triagem da galactosemia no Programa Nacional de Triagem Neonatal (“teste do pezinho”).

5.1. ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

A galactosemia clássica é uma doença hereditária autossômica recessiva causada por uma mutação no gene GALT, localizado no cromossomo 9 (9p13), que controla a formação da enzima GALT. A avaliação da galactosemia clássica é complexa devido à grande heterogeneidade alélica no gene GALT com atividades GALT sobrepostas que podem levar a diferentes patogenidades. A base de dados da Universidade de UTAH registrava em sua última atualização (janeiro de 2013) 336 formas de variante de galactosemia oriundas de 76 estudos, 9 dos quais ainda não publicados ou sendo submetidos ao prelo (http://www.arup.utah.edu/database/GALT/GALT_welcome.php, *Genebank accession number M96264.1 or cDNA M60091.1. Full gene sequence analysis for the GALT gene is offered as ARUP test 0051346.*). Em várias publicações descrevem-se variantes adicionais, patogênicas ou benignas, que serão validadas para serem compiladas na base de dados, por exemplo, 07 novas variantes sequenciadas no Brasil (Garcia *et al.*, 2016).

Dentre os estudos de caracterização identificados nestas pesquisas, a mutação mais comum em pacientes com galactosemia clássica foi p.Gln188Arg (p.Q188R), representando 45 a 90% de todos os alelos mutantes (Boutron *et al.*, 2012; Coss *et al.*, 2013; Garcia *et al.*, 2016; Gort *et al.*, 2006; Greber-Platzer *et al.*, 1997; Item *et al.*, 2002; Kozak *et al.*, 2000; Milankovics *et al.*, Murphy *et al.*, 1999; Ng *et al.*, 1994; Ounap *et al.*, 2010; Suzuki *et al.*, 2001; Tyfield *et al.*, 1999; Viggiano *et al.*, 2015; Zekanowski *et al.*, 1999).

As mutações p.Lys285Asn (p.K285N), embora não muito frequentes nas populações francesas, espanholas, italianas e portuguesas (5% -15%), representaram 25 a 35% das formas variantes em alguns países da Europa Oriental (Kozak *et al.*, 2000; Milankovics *et al.*, 2010; Zekanowski *et al.*, 1999). Em dois estudos provenientes desses países mostrou-se que os indivíduos homocigotos para p.Q188R ou p.K285N não possuem qualquer atividade enzimática, há sintomas graves nos recém-nascidos e existem complicações no longo prazo. Nesses estudos observou-se que todas as outras formas identificadas, tanto homocigóticas quanto as heterocigóticas compostas, e que levaram a atividade GALT indetectável ou muito reduzida (<1%), também estiveram associadas a um curso clínico grave no período de recém-nascidos e houve complicações de longo prazo, apesar de nem todos os pacientes terem sofrido complicações graves, como atraso mental ou anormalidades pronunciadas da fala. Zekanowski *et al.* (1999) relataram desenvolvimento mental normal para cinco



pacientes portadores de alelos variantes p.Gln164X (p.Q164X), p.Trp167Arg (p.W167R), p.Ala320Thr (p.A320T) e IVS5nt + 2 t>c. A homoziguidade para p.Q188R foi associada a um maior risco de dispraxia verbal em comparação com outros genótipos em outro estudo (Robertson *et al.*, 2000).

A forma Duarte 2, a variante da galactosemia (com heteroziguidade para a mutação de Duarte p.Asn314Asp (p.N314D) e um alelo da galactosemia clássica), foi encontrada em 2 a 15% das populações (Greber-Platzer *et al.*, 1997; Kozak *et al.*, 2000; Milankovics *et al.* 2010; Suzuki *et al.*, 2001). Os pacientes com galactosemia da forma Duarte 2 apresentaram atividade enzimática reduzida ($\leq 25\%$) e sem sintomas ou com sintomatologia leve e bom prognóstico em longo prazo no estudo realizado por Milankovics *et al.* (2010). Neste estudo se identificaram dois irmãos com genótipos heterozigotos p.Gln188Arg / p.Glu146Asp, que também apresentaram aproximadamente 25% da atividade enzimática normal e sintomatologia leve.

No Brasil, dentre 30 casos (diagnosticados em idades de 01 mês a 48 anos, e avaliados entre 2 meses e 48 anos de idade) houve 6 que apresentaram forma Duarte 2 (8% com heteroziguidade para a mutação de Duarte com os alelos p.P73S, p.G175D, p.R204X ou p.Q188R/(p.N314D)), e um inclusive com uma nova mutação **p.N97del**. Mais 05 outros destes casos avaliados apresentaram outras mutações ou tipos de galactosemia. Apenas 04/30 casos eram homozigotos p.Q188R da galactosemia clássica (22%) ao exame do genótipo, enquanto o exame da atividade GALT foi indetectável ou abaixo de **13 $\mu\text{mol/hr/g Hb}$** , e embora não homozigotos (inclusive documentando 07 novas variantes, por exemplo, p.M1T/p.Q188R em 03 casos [e 02 eram irmãos], p.M1T/p.S135L em 2 casos, entre as 07 que antes nunca haviam sido descritas) foram diagnosticados como galactosemia clássica (Garcia *et al.*, 2016).

5.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA

Nos três estudos retrospectivos incluídos em que se relatou a frequência dos sintomas na apresentação (Honeyman *et al.*, 1993; Ounap *et al.*, 2010; Shah *et al.*, 2001) mostrou-se que entre 82 a 89% dos casos de galactosemia sintomática se apresentaram com icterícia, 62% com vômito, 39 a 87% hepatomegalia, 87% com letargia, 39 a 75% com crescimento insuficiente, e 13 a 59% com catarata.

No estudo britânico da unidade de vigilância pediátrica (*The British Paediatric Surveillance Unit Study*, Honeyman *et al.*, 1993) relatou-se que 28% do grupo total testado (n = 14) e 20% do grupo total não rastreado (n = 46) apresentaram sintomas graves antes do diagnóstico, ou seja, encefalopatia (3%), coagulopatia (8%), septicemia (13%) e icterícia grave com necessidade de transfusão. No grupo triado, 93% dos pacientes iniciaram o tratamento em 15 dias, em comparação com 71% no grupo não rastreado.

Shah *et al.* (2001) referiram que 29% dos casos sintomáticos confirmados diagnosticados no *Hospital for Sick Children* em Toronto (n = 17) apresentaram insuficiência hepática e 24% septicemia no diagnóstico. Neste estudo, 76% (n = 13) dos neonatos apresentaram sintomas antes de 4 semanas e 47% nas primeiras 2 semanas.

Schweitzer *et al.* (1993) também relataram que a transfusão de troca foi necessária em 36% dos 134 pacientes identificados em 25 hospitais infantis na Alemanha (30% - 40% de número potencial de casos de galactosemia).

Na Hungria (Milankovics *et al.*, 2010) e na Itália (Viggiano *et al.*, 2015) relataram que > 90% dos recém-nascidos apresentaram sintomatologia antes da triagem (dias 4 a 5), e 72,7% destas foi de natureza grave.

Na Estônia, a idade média na hospitalização dos nove casos sintomáticos detectados através do rastreamento foi de 12 dias, com diagnóstico final aos 19 dias (Ounap *et al.*, 2010).



A idade média de admissão na unidade de terapia intensiva do Hospital Dr. Sami Ulus (Turquia) foi de 13 dias (de 3 a 23 dias) (Karadag *et al.*, 2013).

Dentre os casos caracterizados no Brasil, não houve descrição da apresentação clínica ou sintomas (Camelo *et al.*, 2009; três casos com galactosemia clássica dentre 11 positivos verificados por método enzimático de 158 triados positivos dentre 59.953 crianças testadas nos quatro centros de referência do estado de São Paulo). Dentre os 19 pacientes com galactosemia clássica dos 30 casos caracterizados com GALT e teste de repetição de amplificação de DNA e sequenciamento por Garcia *et al.*, 2016, foram discutidos e existe o relato para os homozigotos, entre os quais 1 evoluiu para cirrose antes do tratamento; para 1 dos casos com mutação p.M1T/p.S135L detectada na idade de 02 meses, no qual foi relatado catarata bilateral, anemia, hepatomegalia, ascite que evoluíram para insuficiência hepática, encefalopatia hepática e desidratação, após iniciar a dieta desencadeou-se choque séptico que a levou à óbito (o irmão foi diagnosticado no 1º. mês de vida quando a restrição da dieta foi efetivada e não apresentou qualquer dos sintomas neonatais); para 01 dos casos heterozigotos com icterícia e hepatomegalia aos 15 dias de vida e que um mês após foi diagnosticado pelas cataratas e presença de células *E. coli* BI.21 e para um adulto de 48 anos de idade que se apresentou por insuficiência ovariana e ataxia, portadora de um dos novos alelo mutantes e que não possuía qualquer outro sintoma ou deficiência apesar da atividade reduzida da enzima GALT. Os autores relatam que as formas Duarte foram assintomáticas e que em apenas 01 caso houve suspeita por icterícia neonatal prolongada. Esse caso apresentou atividade da enzima GALT reduzida (12 $\mu\text{mol/h/g Hb}$) que sob dieta restrita se corrigiu no 2º. mês de vida (GALT: 33 $\mu\text{mol/h/g Hb}$, Galactose: 4,3mg/dL) e foi reinstaurada a amamentação materna sem mais sintomas.

5.3. MORTALIDADE

A mortalidade relatada em casos de galactosemia clássica diagnosticada variou amplamente (0 a 100%). No estudo britânico (Honeyman *et al.*, 1993), realizado entre 1988 e 90, relataram-se quatro mortes relacionadas à galactosemia (6,6%): duas no grupo não triado (4,3%) e duas no grupo rastreado (14,2%). Na Suécia (Ohlsson *et al.*, 2012), onde o diagnóstico e o tratamento foram implementados antes da primeira semana de vida, foi relatado que apenas quatro pacientes com galactosemia sobreviveram antes da introdução do rastreamento em 1967 e que apenas 1 morreu depois do PNTN implementado. Nenhuma morte foi relatada na Itália ou no sudoeste da Alemanha após a introdução de um programa de triagem neonatal (diagnóstico médio: 3 a 8 dias) (Lindner *et al.*, 2011; Viggiano *et al.*, 2015). Na Grécia, os dois únicos casos sintomáticos diagnosticados morreram de sepse na 2ª. semana (Schulpis *et al.*, 1997). No Brasil não houve ou não foram relatados óbitos no projeto de triagem do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, HC-FMRP/USP, dentre 59.953 recém-nascidos testados (Camelo *et al.*, 2009). Ainda no Brasil, Garcia *et al.*, 2016, relatou 1 óbito aos 2 meses de idade, associado ao atraso no diagnóstico.

5.4. PROGNÓSTICO EM LONGO PRAZO

Nos estudos de avaliação em longo prazo (n = 15) relatou-se consistentemente que, apesar do tratamento dietético apropriado, os pacientes com galactosemia clássica sofreram deficiências graves a médio e longo prazo, embora tenha havido grande variabilidade interindividual na frequência e gravidade dos resultados (**Tabela 2**).

No geral, as complicações mais frequentes registradas foram: atraso mental (QI ≤ 80 a 85: 32,83%); deficiências de fala e linguagem, como apraxia / dispraxia e disartria (22 a 91%); distúrbios motores (37 a 70%); cataratas transitórias (57 a 77%) e insuficiência ovariana primária feminina (90 a 100%). Crescimento insuficiente e estatura abaixo da média também foram relatados em alguns estudos. Na **Tabela 2** apresentam-se as principais características e resultados destes estudos.



Em vários estudos observou-se que as incapacidades de longo prazo não estavam significativamente correlacionadas com o início da restrição dietética ou da adesão rigorosa à dieta, sugerindo que outros mecanismos, além da intoxicação por galactose, poderiam estar implicados no início destes resultados (Hughes *et al.*, 2009; Karadag *et al.*, 2013; Potter *et al.*, 2013; Schweitzer *et al.*, 1993; Shriberg *et al.*, 2011; Wagoner *et al.*, 1990). A função alterada do hormônio folículo estimulante (FSH) teoricamente devido à hipoglicosilação não foi correlacionada com a insuficiência ovariana primária, nem os resultados de imagem apontaram para um possível indício para o prognóstico de falência ovariana (Gubbels *et al.*, 2013). Na publicação de Waggoners *et al.*, o hormônio FSH foi considerado alterado já na infância em 80% das meninas, e a maioria desenvolveu oligomenorréia e amenorreia secundária dentro de alguns anos da menarca. Da mesma forma, a ingestão alimentar e a atividade GALT não foram associados ao déficit do crescimento ou à diminuição da densidade óssea em pacientes pré-púberes (Kaufman *et al.*, 1993; Panis *et al.* 2004; Panis *et al.*, 2007).

No Brasil, os casos com genótipos variantes também não se correlacionaram com fenótipos ou padrões de morbidade previsível (Garcia *et al.*, 2016), exceto os casos homozigotos da galactosemia clássica, refletindo a dificuldade pela falta de evidências de mais alto nível.

5.5. QUALIDADE DE VIDA

Foram identificados dois estudos que avaliaram a qualidade de vida de crianças com galactosemia usando instrumentos validados. O primeiro estudo (Bosch *et al.*, 2004b), da Sociedade Holandesa de galactosemia, incluiu 63 pacientes e mostrou que crianças de 8,15 anos obtiveram resultados do nível cognitivo e motor significativamente inferiores aos da população holandesa geral. As pessoas com mais de 16 anos também apresentaram diferenças estatisticamente significativas em termos de função social. No segundo estudo (Hoffmann *et al.*, 2012), de 41 membros de um grupo alemão de suporte à galactosemia, 21,8% achavam difícil lidar com a doença, sobretudo em relação à restrição alimentar, percebida como um fardo.



TABELA 2 FREQUÊNCIA DAS PRINCIPAIS COMPLICAÇÕES DE LONGO PRAZO DA GALACTOSEMIA RELATADAS NOS 15 ESTUDOS IDENTIFICADOS

Pais, estudo (referencia)	Tipo de estudo	População	Nº Total	Disfunções Motoras	Tremor	Distonia	Ataxia grave	Problemas de Coordenação	NMR Anormal	Disfunções da Fala/ linguagem	Disfunções Cognitivas	Insuficiência primária ovariana	Cataratas	Osteoporose / Osteopenia
Ireland (Coss et al. 2013)	Revisão retrospectiva	Neonatos -Adultos	T:63 NT:67	-	-	-	T:3,7% (n = 2) NT:7,9% (n = 5)	-	-	T:52% (n = 28) NT:48% (n = 30)	FSIQ <70: 30,6% FSIQ: 70–79: 25,9% FSIQ 80–89: 24,2% FSIQ 110–119: 7,1%	T:100% (n = 11) NT:87% (n = 20)	T:1,6% (n = 1) NT:13% (n = 9)	T:15% (n = 5) NT:39,6% (n = 19)
UK (Rubio-Agusti et al. 2013)	Cross-seccional	Adultos	47	66% (n = 31)	49% (n = 23)	49% (n = 23)	-	-	DC: 13% (n = 6) SP: 9% (n = 4)	36,2% (n = 17)	32% IQ ≤ 9: 19%	90% (n = 26)	25% (n = 12)	-
USA (Waisbren et al. 2012)	Cross-seccional	Adultos	33	-	46% (n = 15)	6%	15%	-	-	Disartria: 64% (n = 21) Apraxia: 24% (n = 9)	Média FSIQ: 88 ± 20 FSIQ ≤ 85: 39% FSIQ ≤ 70: 24,2%	100%	-	21%
Germany (Hoffmann et al. 2011)	Cross-seccional	Crianças-Adultos	32	-	-	-	-	-	-	84,4% (n = 27)	FSIQ: 76,2 ± 14,8 FSIQ <85: 71,8%	-	-	-
Ireland (Widger et al. 2010)	Retrospectiva/compara series de casos	- 14 Casos X 13 Contr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14%	-
UK (Doyle et al. 2010)	Cross-seccional	Crianças-Adultos	28	-	-	-	-	-	-	-	Média verbal IQ: 88,9 ± 16,8 Média executiva IQ: 85,1 ± 12,9	-	-	-
Hungary (Milankovics et al. 2010)	Retrospectiva	Adultos	23	70% (n = 16)	-	-	-	-	-	91% (n = 21)	5 graves (22%)	26% (n = 6)	13% (n = 3)	-
Ireland (Hughes et al. 2009)	Retrospectiva ¹	Crianças (6–26 m)	30	23% (n = 7)	-	-	-	-	83,3% (10/12)	77% (n = 20)	71%	-	-	-



Pais, estudo (referencia)	Tipo de estudo	População	Nº Total	Disfunções Motoras	Tremor	Distonia	Ataxia grave	Problemas de Coordenação	NMR Anormal	Disfunções da Fala/ linguagem	Disfunções Cognitivas	Insuficiência primária ovariana	Cataratas	Osteoporose / Osteopenia
Poland (Zekanowski et al. 1999)	Retrospectiva	Crianças-Adultos	40	-	-	-	-	-	-	40%	55%	-	30%	-
Ireland (Badawi et al. 1996)	Retrospectiva ²	Crianças-Adultos	62	-	-	-	-	-	-	21,8% (n = 7)	IQ 63–74: 15,6% IQ 84: 3,1% IQ 91–119: 56,2%	66,6%	12,9% (n = 8)	-
USA (Kaufman et al. 1995)	Cross-seccional	Crianças-Adultos	45	-	-	-	-	-	-	-	IQ <70: 35% IQ 70–79: 27,5% IQ 80–90: 20% IQ 90–115: 17,5%	-	-	-
Ireland (Beigi et al. 1993)	Retrospectiva ²	Crianças	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,5% = 3 (n = 12)	-
Germany (Schweitzer et al. 1993)	Retrospectiva cross-seccional ⁴	Crianças-Adultos	114 C-S:83 R: 31	C_S:37% (n = 29)	C_S:13,2% (n = 11)	-	C_S:7,2% (n = 6) 3 graves	C_S:14,4% (n = 12)	-	C_S:65,1% (n = 43) R: 38,7% (n = 12)	DQ or IQ <85%: 45% - < 6 y: 12% 7–12: 56% >12 y: 83%	-	Cr:21	-
USA (Nelson et al. 1991)	Retrospectiva cross-seccional	Crianças-Adultos	24	-	-	-	-	-	-	Dispraxia: 54%	-	-	-	-
USA (Waggoner et al. 1990)	Retrospectiva, enquete ⁵	Crianças-Adultos	350	37%	4,4% (n = 9)	-	1%	-	-	-	-	-	-	-
Brasil (Garcia et al., 2016)	Retrospectiva, genotipagem	Crianças-Adultos	30	3%	-	-	3%(n=1)	-	-	-	-	3%(n=1)	6,6% (n=2)	-

Legenda: DC: disfunção cerebelar; SP: sinais e sintomas piramidais; T: *traveler*, população de viajantes; NT: população local;

NOTAS:

¹ % calculada das crianças ≥ 6 anos de idade que foram avaliadas qualitativamente (n=114) e quantitativamente (n=184) por diferentes testes em diferentes idades;

² O coeficiente foi avaliado em 32 crianças: em 24 pela escala WISC-Ror Stanford Binet, e em 8 por avaliação do desenvolvimento;

³ Também incluiu cataratas identificadas durante o diagnóstico;

⁴ Cálculo baseado nas avaliações física, neurológica e psicométrica (n=83) e avaliações retrospectivas (n=31);

⁵ Função motora avaliada mediante questionários de 206 casos com ≥3,5 anos de idade; desenvolvimento mental calculado para 177 casos com ≥3,5 anos de idade (Escores IQ relatados para 63% casos tardios e 56% dos casos não tardios, e demais casos restantes foram avaliados apenas qualitativamente).





6. TRATAMENTO

A recomendação de consenso para o gerenciamento da galactosemia do Reino Unido e dos Estados Unidos, "UK Galactosaemia Steering Group" (Walter *et al.*, 1999) e "Task Force of the Galactosaemia Foundation (USA)", é que o leite materno e as fórmulas à base de lactose sejam retirados após o diagnóstico ou suspeita clínica de galactosemia (Van Calcar *et al.*, 2014). Todos os entrevistados (n = 13) de uma pesquisa global de prestadores de cuidados de saúde que seguiram diretamente 234 pacientes de 11 países indicaram que recomendaram restrição completa após o diagnóstico (Wagoner *et al.*, 1990). Os resultados da pesquisa internacional abrangendo 371 pacientes da Europa e dos EUA é consistente com esta abordagem porque mostra que 91% dos recém-nascidos tratados desde o nascimento como consequência de haver tido um irmão mais velho afetado, não apresentaram sintomas no período de recém-nascido (Jumbo-Lucioni *et al.* 2012).

Nos documentos de consenso recomenda-se que o leite e os produtos lácteos sejam restritos por toda a vida. As recomendações relativas à exclusão de frutas, vegetais de folhas verdes e outros produtos tendem a variar de país para país (Hughes *et al.*, 2009; Jumbo-Lucioni *et al.*, 2012; Van Calcar *et al.*, 2014; Walter *et al.*, 1999). Em um estudo prospectivo se investigou o resultado de doses crescentes de galactose oral em três adolescentes que seguiram uma dieta rigorosa não apresentando alteração significativa nos parâmetros clínicos ou bioquímicos estudados (Gal-1-P, galactitol urinário), apoiando a visão de que uma dieta rigorosa não seria necessária (Bosch *et al.*, 2004a). Em outro estudo retrospectivo (Hughes *et al.*, 2009), avaliaram-se 110 pacientes e observou-se diferença entre complicações de longo prazo nos indivíduos com maior e menor consumo de galactose (< ou > 20mg / dia). Widger *et al.* relatou também que a persistência das cataratas não diferiu significativamente entre bons aderentes (≤ 50 mg / dia de galactose) ou pouco aderentes à dieta (> 50 mg / dia de galactose).

Não existe um consenso geral sobre o tratamento de Duarte 2 ou formas heterozigóticas leves. Em um estudo, em que retrospectivamente foram comparadas 28 crianças com galactosemia Duarte 2 tratadas com dieta restrita desde o primeiro ano de vida e 17 crianças que seguiram uma dieta normal, não se observaram diferenças significativas em resultados clínicos ou complicações de longo prazo (Ficicioglu *et al.*, 2008). O progresso do paciente foi bom em todos os casos. Uma avaliação baseada em um estudo longitudinal, *registry*, mostrou que nenhuma das 59 crianças identificadas com galactosemia Duarte 2 apresentava deficiência intelectual, perda auditiva, deficiência visual ou desordem do espectro autista. Independentemente da restrição alimentar, 8,5% das crianças de 03 a 10 anos e 15,2% das crianças de 8 anos receberam educação especializada (embora 6,7% apresentaram distúrbios da fala / linguagem) em comparação à 4,5% das crianças de 03 a 10 anos e 5,9% das de 8 anos da população livre de galactosemia (Powell *et al.*, 2009).

Também não há um consenso quanto ao acompanhamento de pacientes sintomáticos, ou quantas avaliações devem ser feitas e em qual periodicidade (variando desde cada 2 a 3 semanas até 4 vezes / ano). Na enquete internacional citada indicou-se que o acompanhamento do desenvolvimento infantil (13/13 entrevistados) e a avaliação da função hepática (11/13) são comuns (Jumbo-Lucioni *et al.*, 2012). O grupo de galactosemia do Reino Unido recomenda a determinação dos níveis de Gal-1-P para monitorar a conformidade com a dieta (Walter *et al.*, 1999), mas as medidas frequentes para o monitoramento de longo prazo são consideradas injustificadas por alguns especialistas porque não foi demonstrado nenhum vínculo causal verdadeiro (Hughes *et al.* 2009; Schweitzer *et al.*, 1993; Walter *et al.* 1999) e, além disto, sabe-se que alguns países possuem capacidade limitada para medir Gal-1-P (Jumbo-Lucioni *et al.*, 2012).



7. SCREENING & DIAGNÓSTICO

7.1. DESCRIÇÃO DOS TESTES DIAGNÓSTICOS E PARA RASTREAMENTO

De acordo com a pesquisa realizada por Jumbo-Lucioni *et al.* (2012), a galactosemia só está incluída em uma minoria de programas de rastreamento neonatal europeus. Foram relatados diferentes testes de diagnóstico, dos quais nos mais comuns se avalia a galactose total (galactose e Gal-1-P) e se determina a atividade de GALT em amostras de manchas de sangue secas derivadas de amostras de calcanhar ou punção venosa das veias do dorso das mãos.

O teste de inibição microbiológica qualitativa de Guthrie foi o primeiro método desenvolvido para a detecção de hipergalactosemia (Guthrie e Susi, 1963). Subsequentemente, foram relatados vários testes com diferentes lógicas e mecanismos de ação (microbiológicos, fluorométricos, colorimétricos, espectrofotométricos e de massa *em tandem*). Vários referem-se a ensaios automatizados ou *kits* de diagnóstico que permitem uma medida quantitativa de galactose total (Fingerhut e Torresani 2013; Freer *et al.* 2010; Ohlsson *et al.*, 2012). Todos requerem alguma ingestão de lactose / galactose e detectam diferentes condições que apresentam hipergalactosemia, incluindo deficiências de galactoquinase e uridina-fosfato epimerase de galactose. Os falsos positivos (FP) podem surgir em todos os testes como consequência do aumento dos metabólitos de galactose ou nos pacientes heterozigotos com variantes de Duarte.

Diferentes métodos automatizados fluorométricos, colorimétricos e radiométricos também foram descritos para medir GALT. Os ensaios GALT, utilizados como testes de verificação em todos os programas de triagem identificados, com uma exceção (Ohlsson *et al.*, 2012), identificam todos os pacientes com deficiências de GALT, incluindo os genótipos Duarte 2 e outras formas heterozigóticas benignas. Os métodos fluorométricos / colorimétricos demonstraram que também podem detectar as deficiências graves de glicose 6-fosfato desidrogenase e deficiências de fosfoglucomutase, pois estas enzimas são necessárias para que tais testes funcionem.

Os testes genéticos moleculares são utilizados em alguns programas de triagem, mas não em outros, para diferenciar a galactosemia clássica da de Duarte ou de formas heterozigóticas compostas benignas (Comeau *et al.*, 2004; Coss *et al.* 2013; Couce *et al.*, 2011;).

Na **Tabela 3** descrevem-se as abordagens de seleção e diagnóstico utilizadas nos programas de triagem identificados na literatura revisada (estratégia de triagem, critérios diagnósticos e idade do diagnóstico)



TABELA 3 CARACTERÍSTICAS OPERACIONAIS DOS PROGRAMAS IDENTIFICADOS NA REVISÃO DA LITERATURA: DESCRIÇÃO DAS ABORDAGENS DE RASTREAMENTO, SCREENING, TESTES DIAGNÓSTICOS USADOS E IDADE AO DIAGNÓSTICO

Pais, estudo (referência)	Período	Idade ao rastreamento	Teste Screening	Cut-off point/s	Teste/s confirmatório	Idade ao diagnóstico
Irlanda (Coss <i>et al.</i> 2013)	1996-2013	72-120 h	Determinação Quantitativa total da galactose	-	Ensaio enzimático (atividade GALT), determinação molecular (PCR-RFLP)	-
Dinamarca (Lund <i>et al.</i> 2012)	2001-2004	4-9 dias (média: 5)	MS/MS	Galactose-1-P >1.2 mM3	Ensaio enzimático Gal-1-P em eritrócitos, determinação molecular	2-7 dias após amostras
Galícia, Espanha (Couce <i>et al.</i> 2011)	2000-2010	5-8 dias (≤ 2002);	1ª. etapa: Determinação por MS/MS de Galactose 1-P	Galactose-1-P: 2.40 mM	Determinação enzimática e/ou análise molecular	Média 10 dias
		3 dias (>2002)	2ª. etapa: Determinação de substâncias redutoras na urina	Amostra Urina: normal		
			3ª. etapa: Confirmação por cromatografia <i>thin-layer</i>			
			4ª. etapa: HPTLC se resultados positivos			
S. Alemanha (Lindner <i>et al.</i> 2011)	1999-2009	1-5 dias (<2002) 36-72 h (>2002)	Determinação por MS/MS de Galactose 1-P	-	Ensaio enzimático (atividade GALT), e galactose 1-P em amostra de gota seca e eritrócitos	8 dias
Alemanha, DGNS (Nennstiel-Ratzel <i>et al.</i> 2012)	2012	36 hrs-7 dias	Determinação da galactose e GALT (n = 10 Laboratórios):	-Galactose: 15 mg/dl (n = 3); >15 mg/dl (n = 2); 20 mg/dl (n = 2); 30 mg/dl (n = 1); < 30 mg/dl (n = 2); 1111 $\mu\text{mol/l}$ (n = 1)	Ensaio enzimático, Gal-1-P em Eritrócitos, análise molecular	≤ 24 h após amostras: 20 % >24-48 após amostras: 37 % >48-72 h após amostras: 23 % >72 h após amostras: 22 %
			Determinação de GALT (n = 3 Laboratórios)	- GALT: <2.3 U/gHb (n = 3); 2.3 U/gHb (n = 2)		
			- Determinação colorimétrica da Galactose: BIORAD Quantase (n = 5); colorimetria não <i>kit</i> (n = 3)	-3.5U/gHb (n = 4); < 30 % (n = 2); < 20 % média diária (n = 1)		
			- Determinação colorimétrica da Galactose: BIORAD Quantase (n = 5); fluorometria PE (n = 2), fluorimetria quantitativa (n = 5; não <i>kit</i> 2)			



Pais, estudo (referência)	Período	Idade ao rastreamento	Teste Screening	Cut-off point/s	Teste/s confirmatório	Idade ao diagnóstico
Suécia (Ohlsson <i>et al.</i> 2012)	1992-2010	Desde 2007:	1º. terço: determinação GALT (teste Beutler);	GALT: ≤15 %	Teste GAL-DH	≤7 dias
		Após 48 h (média : 2.9 dias)	≥2º. terço - atual: Determinação Total da galactose (teste GAL-DH)	GAL-1-P: ≥1.5 mmol/L; Gal: >0.5 mmol/l		
Hungary (Milankovics <i>et al.</i> 2010)	2010	4-5 dias	Determinação Quantitativa total da galactose (Galactose Kit; BIORAD Laboratórios)	-	Atividade GALT (teste <i>Beutler spot</i>)	-
New England (Comeau <i>et al.</i> 2004)	1999-2003	-	1ª. etapa: - Determinação Total da galactose	Galactose ≥ 6 mg/dl	Determinação de 03 mutações alélicas	-
			2ª. etapa: - Ensaio enzimático GALT	GALT reduzida ou ausente?		
Austria (Item <i>et al.</i> 2002)	2002	3-5 dias	Determinação colorimétrica quantitativa total de galactose (BIORAD Quantase)	Galactose >20 mg/dl	Determinação Quantitativa da atividade de GALT (normal: 27.8 ± 6 µmol/h/g Hb)	≈7 dias
				Galactose >12 mg/dl (repete <i>screen</i>)		
Japan (Fujimoto <i>et al.</i> 2000)	1997-1999	-	1ª. etapa: - Determinação Enzimática Quantitativa GALT (Beutler <i>fluorescent</i> teste)	GALT FI valor ≤250 and (repete <i>screen</i>)	Determinação Molecular	-
			2ª. etapa: - Determinação Total Galactose (método Paigen)	GALT FI valor ≤250 e galactose total ≥ 7 mg/dL (<i>recall</i>)		
				GALT FI valor ≤200 e galactose total ≥ 7 mg/dL (verificação)		
Greece (Schulpis <i>et al.</i> 1997)	1994	3-5 dias	Determinação de galactose e galactose 1-phosphate por método colorimétrico (Quantase TM®, Shield's Diagnostics)	Galactose >4.86 mg/dl (repete <i>screen</i>)	Ensaio enzimático (GALT:0)	7-15 ² dias

Fonte: DGNS: Dados do *Deutsche Gesellschaft für Neugeborenen-Screening* em 2012; ² idade na avaliação laboratorial



Pais, estudo (referência)	Período	Idade ao rastreamento	Teste <i>Screening</i>	<i>Cut-off point/s</i>	Teste/s Confirmatório	Idade ao diagnóstico
Brasil (Garcia <i>et al.</i> , 2016)	-	1 mês a 48 anos	Determinação Enzimática Quantitativa GAL	(≥7mg/dL)	Ensaio enzimático-colorimétrico (atividade GALT ≤12 μmol/h/g Hb), e re-teste determinação molecular dos positivos com amplificação de DNA e sequenciamento (<i>Super Quick-Gene Rapid Kit</i> e PCR+ <i>Big Dye</i> comparados ao <i>GeneBank Database</i>)	2 meses a 48 anos



TAXA DE DETECÇÃO DE TESTES DE RASTREAMENTO

Na **Tabela 4** apresentam-se as taxas de detecção em diferentes países / regiões calculadas com base nos casos detectados nos 12 estudos incluídos, em que são fornecidos dados nacionais dos programas de triagem neonatal. Com relação à Europa, nestes estudos forneceram-se informações sobre 4.270.061 neonatos rastreados. Com base nestes estudos, pode-se estimar que a incidência média de galactosemia clássica na Europa é de aproximadamente 1 caso por 74.913 nascimentos (ou seja, 1,33 casos por 100.000 nascimentos) (Tabela 4). A Irlanda e a Grécia apresentam a maior taxa de detecção, com 6,07 casos e 4,5 casos por 100.000 recém-nascidos, respectivamente; e na Irlanda, a incidência de galactosemia na população viajante é calculada em 232 casos por 100.000 habitantes. Os países com taxas de detecção mais baixas são o sudoeste da Alemanha, Dinamarca e Suécia, com taxas de 1,29; 1,18 e 0,91 casos por 100.000 nascimentos, respectivamente. A Espanha tem uma incidência estimada de 2,3 casos por 100.000 nascimentos. No Brasil, foi estimado que a incidência varia em torno 5, de 1,6 até 13,3 na simulação, por 100.000 habitantes (1:59.953 por Camelo *et al.*, 2009).

TABELA 4. TAXA DE DETECÇÃO DE TESTES DE RASTREAMENTO

Estudo, referencia	País	Período do estudo	Nº. de casos detectados	População triada	Taxa de Detecção	Taxa por 100.000 RNs
ASIA						
(Fujimoto <i>et al.</i> 2000)	Japão	1997-1999	0	46.742	0	0
EUROPA						
(Coss <i>et al.</i> 2013)	Irlanda	1972-2011	135	-	T: 1:16.476 NTrav:1:33.917 Trav: 1:430	T: 6,07 Non-Trav: 2,94 Trav: 232
(Lund <i>et al.</i> 2012)	Dinamarca	2001-2004	1	84.045	1:84.045	1,18
(Couce <i>et al.</i> 2011)	Galícia, Espanha	2000-2010	5	210.165	1:42.033	2,38
(Lindner <i>et al.</i> 2011)	Sudoeste da Alemanha	1999-2009	14	1.084.195	1:77.442	1,29
DGNS (Nennstiel-Ratzel <i>et al.</i> 2012)	Alemanha	2012	9	674.926	1:74.838	1,33
(Ohlsson <i>et al.</i> 2012)	Suécia	1992-2010	18	1.973.400	1:109.633	0,91
(Milankovics <i>et al.</i> 2010)	Hungria	1976-2010	-	-	1:47.000	2,12
(Item <i>et al.</i> 2002)	Áustria	2002	1	43.688	1:43.688	2,28
(Schulpis <i>et al.</i> 1997)	Grécia	1997	9	199.642	1:22.182	4,50
Total Europa*		1972-2012	57	4.270.061	1:74.913	1,33
AMERICA do NORTE						
(NNNSGRC 2009)	América do Norte	2006	62	41.171.396	1:67.279	1,48
AMERICA do SUL						
(Torres-Sepulveda <i>et al.</i> 2008)	Nuevo León (México)	2002-2004	1	42.264	1:42.000	2,38
(Camelo <i>et al.</i> , 2009)	Brasil	2009	3	59.953	1: 19.984	5,00



ACURÁCIA DOS TESTES DE TRIAGEM

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

Na **Tabela 5** apresentam-se os principais resultados dos dados dos 13 estudos descritivos que permitiram o cálculo de sensibilidade e especificidade. No grupo de idade, os estudos incluíram a coorte de 3.045.177 neonatos rastreados. Nos protocolos de triagem aplicados nos diferentes países se utilizaram diferentes testes de verificação e diversos pontos de corte e, portanto, diferiram em suas definições de um caso positivo. Todos os resultados que excederam o limiar de corte definido foram considerados positivos, e assumindo-se que não houve resultados falsos negativos porque não houve evidência de diagnóstico de casos adicionais de galactosemia em seus respectivos centros ou em suas respectivas regiões / países. Como tal, a especificidade e a sensibilidade foram estimadas em 99,7% a 99,9% e 100%, respectivamente, em todos os programas.

TAXA DE FALSO POSITIVO E VALOR PREDITIVO POSITIVO

A taxa de FP variou de 0,0005% a 0,26% (**Tabela 5**). O programa de triagem que produziu a menor taxa de FP foi o da Suécia, em que se utilizou uma abordagem de duas etapas. Na primeira amostra de rastreamento, a atividade enzimática é medida pelo teste de Beutler, seguido de uma determinação de galactose total como segundo nível quando a atividade encontrada é de $\leq 15\%$ (teste Rap-Gal-DH) (Ohlsson *et al.*, 2012). A taxa de *recall* (teste de acompanhamento) foi muito alta no programa de triagem austríaco (Item *et al.*, 2002), que se baseou na determinação total da galactose utilizando o teste Quantase Phe / Gal como teste de diagnóstico. No Brasil a taxa de falsos positivos documentada foi a mais alta: 0,26% (Camelo *et al.*, 2009).

O valor preditivo positivo (VPP) variou de 0,9% até 64,3% (Tabela 5). Em apenas dois programas obteve-se um VPP superior a 20%, ou seja, os da Suécia e da Região da Galícia da Espanha (Couce *et al.*, 2011; Ohlsson *et al.*, 2012). No último caso, o rastreamento foi feito usando um procedimento de quatro etapas/níveis e, no cálculo do VPP, não foi levada em conta a taxa de *recall* da segunda amostra, devido à falta de informações sobre esse aspecto.

FALSOS NEGATIVOS DO TESTE

Em nenhum dos estudos relataram-se resultados sobre falsos negativos.



TABELA 5. ACURÁCIA DOS TESTES DE TRIAGEM

Estudo (referência) Diferentes testes	População N	Taxa de Recall (%)	TP	FP	%FP	PPV	Estimativa de sensibilidade	Especificidade estimada
<u>DGNS (Nennstiel-Ratzel et al. 2012)</u> ¹ Determinação GALT + galactose total (galactose e galactose 1-phosphate)	674.926	221 (0,03 %)	9	212	0,03%	4,1	100	99,9
<u>Ohlsson et al. 2012</u> Determinação quantitativa da galactose total	1.973.400	28 (0,001 %)	18	10	0,0005%	64,3	100	99,9
<u>Item et al. 2002</u> Espectrometria de massa Tandem	43.688	110 (0,25 %)	1	109	0,25%	0,9	-	-
<u>Lund et al. 2012</u>	84.045	20 (0,02 %)	1	19	0,02%	5	100	99,9
<u>Couce et al. 2011</u>	210.165	9 (0,004 %)	5	4	0,01%	55,5	-	-
<u>Camelo et al. 2009</u>	59.953	158 (0,26%)	3	157	0,26%	0,019	100	99,7
TOTAL	3.046.177	388 (0,01 %)	37	511	0,01%	8,7	100	99,8

CUSTO-EFETIVIDADE DA TRIAGEM DE GALACTOSEMIA

Em um estudo avaliou-se a relação custo-efetividade da inclusão do teste para detecção de galactosemia no programa espanhol de rastreamento de condições metabólica em TN usando MS / MS mostrou-se que a triagem clássica de galactosemia não possuía boa relação entre economia e benefícios (Garcia Perez *et al.*, 2013). Durante o horizonte de toda a vida, o índice incremental de custo-efetividade foi calculado em €129,46 por ano-de-vida. Entretanto na análise de sensibilidade estimou-se que a probabilidade de que um PNTN fosse custo-efetivo era inferior a 10%, caso houvesse um limiar de disposição de pagar até €30.000 por ano-de-vida salvo (Garcia Perez *et al.*, 2013).

No Brasil, o modelo (Camelo *et al.*, 2009) simulado, considerando-se a incidência 0,01833% em relação aos 59.953 casos rastreados no estado de São Paulo, foi projetado nas taxas de 1:59.953 – 1:19.984 e 1:7.994 aos 600.000 nascimentos anuais, estimando-se poder detectar 10, 30 e 80 casos, respectivamente. Com a taxa de desconto de 11,75%, foi igualmente assumido que o custo da triagem seria dado pelo custo de R\$ 5,00 do teste GAL (Kit: R\$ 2.700,00 / 2.000 determinações), o valor de perda da produtividade de meio dia (R\$ 21,65) para fazer o teste, o teste de confirmação (R\$ 100,00 por teste de confirmação), R\$ 80,34 para a consulta médica no HC-FMRP/USP, R\$ 2,00 de contato telefônico e R\$ 5,00 para o meio de transporte. A convocação para a confirmação da triagem positiva com a incidência 0,26333% (n≈ 1.580 crianças), em segunda amostra também gerou custos. Como havia cerca de 600 mil nascidos anualmente no Estado de São Paulo e o custo por determinação de galactose total foi de R\$ 1,52 (Kit *Neolisa Total Galactose – Intercientifica*), foi estimado um valor total de custo de R\$ 983.029,45/ano para a triagem e o valor do custo total descapitalizado foi de R\$ 937.336,54. Com a taxa de detecção de – 1:19.984 foi assumido que 10 a 13 dos 30 potenciais pacientes detectados trabalhariam regularmente entre 20 a 65 anos de idade com salário em março de 2009 de R\$ 1.298,70 mensal. Restariam 20 a 17 casos, que normalmente não trabalhariam, se rastreados na triagem do TNPN, poderiam passar a ganhar a mesma produtividade representando o benefício da triagem. Com os potenciais 20 casos evitando tratamento de urgência, e com a taxa de desconto de 11,75%, o valor dos benefícios já descapitalizados, foi estimado em R\$ 499.440,27. Assim, os autores estimaram, à época, que a triagem nacional dos 600.000 recém-nascidos, que somaria R\$ 937.336,54 poderia ser contra-balançado (na razão de 1,33) pelos valores dos benefícios. Além disto, os autores discutem a similaridade entre as propostas de triagem de galactosemia e aquela estabelecida de fenilcetonúria, PKU, com incidência descrita de 1:19.409 nascidos vivos em São Paulo entre 1994 e 2005, e no Paraná, entre 2001 e 2006, demonstra incidência de PKU de 1:20.529 nascidos vivos; sendo que o tratamento da galactosemia é muito mais barato e tão efetivo quanto o da PKU.



AVALIAÇÃO DA ADEQUAÇÃO DO TESTE PARA RASTREAMENTO DA GALACTOSEMIA AOS CRITÉRIOS PARA RASTREAMENTO POPULACIONAL DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE

Na **Tabela 6** resume-se a adequação do teste para rastreamento da Galactosemia aos critérios para rastreamento populacional da Organização Mundial da Saúde, “*Population Screening Framework Document*” (Andermann *et al.*, 2008).

TABELA 6. CRITÉRIOS WHO-OMS E RESPOSTAS RELATIVAS À LITERATURA SOBRE GALACTOSEMIA

Princípios WHO-OMS	Resposta	Nível de evidência	Cumprimento
DOENÇA			
1. Problema de saúde importante	A galactosemia é uma doença genética rara (incidência estimada na Europa: 1,33 / 100 000) que, se não tratada, pode causar complicações graves ao nível dos órgãos vitais, como cérebro, fígado e rim. A morte de sepse fulminante devido a E. Coli pode ocorrer durante as primeiras semanas de vida, embora a taxa de mortalidade seja desconhecida.	4	√
2. Doença bem definida, com história natural conhecida	Embora a galactosemia clássica seja definida por atividade enzimática GALT muito reduzida ou nula, o ponto de corte segundo o qual ela é classificada como doença varia de país para país ($\leq 15\%$ a $\leq 30\%$).	4	±
3. Período de latência detectável	De acordo com dados descritivos, estima-se que a maioria dos recém-nascidos com galactosemia clássica desenvolverá sintomatologia característica da doença nas primeiras 02 semanas de vida. Os estudos de triagem recuperados indicam que sintomas graves podem já aparecer antes do final da primeira semana.	4	±
4. Medidas de prevenção primária custo-efetivas	Não existem medidas de prevenção primárias.	N/R	N/R
TESTE DE TRIAGEM			
5. Teste simples e seguro	Existem diferentes métodos de triagem validados, com racionalidades e mecanismos de ação muito diferentes (determinação de metabolitos de galactose, atividade enzimática de GALT ou detecção de mutações). Vários referem-se a ensaios automatizados ou a um kit de diagnóstico que permitem as avaliações do mesmo dia. Todos são baseados em amostras de sangue de calcanhar recém-nascido.	N/R	√
6. Teste válido, confiável e eficiente	Os protocolos de triagem aplicados nos diferentes países utilizam diferentes testes de diagnóstico, diferentes pontos de corte e diversos testes de verificação e, portanto, diferem em sua definição de caso positivo. Com base em dados descritivos, estima-se que todos os programas tenham uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 99,9%. A taxa de falsos positivos varia de 0.0005% a 0.25%. O PPV variou de 0% a 64,3%.	3b	±
7. Teste aceitável	As amostras de sangue do calcanhar são rotineiramente testadas com o objetivo de rastrear outros distúrbios congênitos.	N/R	√
8. Critérios de seleção para mutações a serem incluídas	N/R	N/R	
TRATAMENTO			



Princípios WHO-OMS	Resposta	Nível de evidência	Cumprimento
9. Evidências científicas sólidas sobre o processo de diagnóstico e o tratamento	O tratamento inicial baseia-se na retirada do leite materno e das fórmulas à base de lactose. Há dúvidas em torno do tratamento de variantes tipo Duarte ou formas heterozigóticas leves. Da mesma forma, não existe um consenso geral sobre as diretrizes de acompanhamento ou as avaliações que devem ser feitas. Alguns autores levantam a possibilidade de liberar da dieta sem galactose após um ano, sob vigilância rigorosa, mas atualmente não há provas suficientes para conclusões definitivas sobre essa questão.	4	±
10. Existência de um tratamento mais eficaz no estágio presintomático.	A evidência científica indica que, se a restrição da lactose for introduzida no estágio inicial assintomático, podem ser prevenidas ou reduzidas complicações agudas graves e óbitos prematuros que ocorrem no período do recém-nascido. No entanto, os pacientes apresentam deficiências graves (deficiência cognitiva, distúrbios da fala / linguagem, desordens motoras, etc.) em longo prazo, independentemente do tratamento dietético precoce.	4	±
11. Cuidados de saúde de rotina otimizados.	Com base nos dados publicados, estima-se que a restrição alimentar deve ser implementada antes do final da primeira semana de vida. Na série de programas de triagem revisados, a verificação e / ou o início do tratamento ocorrem dentro de 7-15 dias.	4	±
PROGRAMA DE TRIAGEM			
12. Evidência de eficácia de alta qualidade	A evidência existente permanece inconclusiva se o rastreamento de galactosemia está associado à redução da morbidade e mortalidade. Estudos sugerem que as manifestações graves podem ser reduzidas / evitadas se o tratamento for iniciado nos primeiros 7-8 dias, mas não se sabe se os programas de triagem da população seriam realmente superiores a outras medidas de prevenção secundária destinadas a prevenir complicações agudas graves (por exemplo, protocolos de alerta ao diagnóstico nos 1 ^{os} dias de vida, educação parental antes da alta hospitalar).	4	x
13. Benefício que supera os riscos potenciais	Os riscos da triagem estão fundamentalmente ligados aos resultados falsos positivos, o que poderia criar ansiedade nos pais devido à possibilidade de uma criança ter a doença até a confirmação dos resultados. O excesso de tratamento de formas benignas e / ou suaves também pode ser considerado um evento adverso, pois isso pode influenciar a qualidade de vida dos pacientes.	5	±
14. População alvo bem definida	A população-alvo seria todos recém-nascidos, sendo a prática padrão para o programa de PNTN ser oferecido em todos os hospitais públicos, privados e maternidades, de modo a garantir o acesso de todos os recém-nascidos.	N/R	v
15. Custo equilibrado	De acordo com os resultados da avaliação econômica realizada, a inclusão de galactosemia no programa de triagem usando MS / MS não é eficiente.	3b	x
16. Programa completo aceitável	O rastreamento de recém-nascidos para a galactosemia pode ser facilmente incorporado no programa de triagem de recém-nascidos existente.	N/R	v
17. Avaliação e qualidade	Atualmente, não existem indicadores de processo e resultado que permitam avaliar a efetividade e a qualidade dos programas de triagem de recém-nascidos nos centros públicos e privados para a galactosemia clássica.	N/R	x



Princípios WHO-OMS	Resposta	Nível de evidência	Cumprimento
18. Programa viável no âmbito do Sistema Nacional de Saúde	Não há dados representativos e suficientes para avaliar o impacto que o programa teria sobre o Sistema Nacional de Saúde público, o SUS.	N/R	×

8. RECOMENDAÇÃO DE INCORPORAÇÃO EM OUTROS PAÍSES

As recomendações de rastreamento neonatal de GAL variam. Entre os sistemas de saúde públicos, por exemplo, a Suécia (Ohlsson *et al.* 2012) e a Alemanha (Nennstiel-Ratzel *et al.* 2012) possuem rotina de triagem neonatal com GAL; enquanto apenas a metade das províncias/regiões do Canadá (CORD 2015) possui programa de TN com rastreamento de GAL; e, no Reino Unido o investimento diagnóstico imediato (1ª. semana de vida) é feito apenas naqueles que se tornam sintomáticos (Broomfield *et al.*, 2015). Os autores salientam, entretanto, consistentemente que os desfechos em longo prazo permanecem nada alentadores.

Nos sistemas privados (**Tabela 4**), por exemplo, nos Estados Unidos, há programa de TN com rastreamento de GAL há 50 anos (Guthrie, 1968), atualmente em todos estados, mas com diferentes testes, diferentes *cut-offs*, e, portanto, várias definições de caso positivo. As amplas variações nos programas estaduais dos Estados Unidos levaram vários autores a publicar revisões com recomendações de como diagnosticar e tratar a galactosemia (Berry *et al.*, 2012) que cumularam no protocolo de 2017 do *American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG, Standards and Guidelines* (Pasquali *et al.*, 2017). No documento são revisados os métodos de laboratório e melhores práticas para diagnosticar galactosemia buscando padronizar os programas e permitir gerar alguma comparabilidade.

9. DISCUSSÃO

Idealmente, uma doença deve cumprir todos os critérios de seleção para ser considerada apropriada para inclusão em um programa de triagem. No que diz respeito à galactosemia clássica, não há evidências suficientes para confirmar o cumprimento desses critérios, embora os benefícios não possam ser desconsiderados. A falha de publicar os resultados dos programas de saúde pública, dados sólidos das unidades clínicas relacionadas às condições metabólicas e do programa de TN, bem como de suas consequências em longo prazo, constituem limitações importantes para se formar conclusões sólidas sobre a eficácia do teste de detecção de galactosemia no PNTN. A evidência publicada é de baixa qualidade e é baseada em estudos observacionais retrospectivos, séries de casos fundamentalmente longitudinais ou comparados e estudos transversais sem grupo de controle.

A galactosemia clássica é uma doença grave, potencialmente diagnosticável e tratável. Os principais argumentos a favor da triagem baseiam-se na afirmação de que, se uma dieta restrita em lactose for fornecida durante a fase assintomática, ela poderia prevenir a maioria das complicações graves agudas e mortes prematuras que aparecem no período neonatal do recém-nascido. Wagoner *et al.* (1990) demonstraram que 91% dos casos que foram diagnosticados, porque um irmão mais velho havia sido afetado, não apresentaram sintomas na fase neonatal. No entanto, os dados apontam para sintomatologia característica e sintomas graves antes da 2ª. semana de vida. A partir dos estudos recuperados, poderia postular-se que as mortes relacionadas à galactosemia poderiam haver sido prevenidas se o diagnóstico e o tratamento fossem realizados na primeira semana de vida, o que significa que, para ser bem-sucedido, um programa de TN deve



divulgar o relatório de resultados e efetuar o tratamento do clássico paciente com galactosemia antes deste período. Embora isso não possa erradicar todas as mortes por *E. coli*, que pode ocorrer até tão cedo quanto nos 3 dias de vida, isto poderia permitir uma redução na mortalidade em pacientes com galactosemia clássica. Os programas de TN existentes, incluindo o brasileiro, podem exigir mudanças na estratégia de triagem, de modo a encurtar os tempos tanto de diagnóstico quanto para o tratamento. Levando em consideração a heterogeneidade e baixa qualidade da base de evidências, não se pode derivar conclusões firmes quanto à adequação do teste para rastreamento da galactosemia no PNTN atual.

Nos estudos incluídos constou-se consistentemente que, apesar do tratamento dietético apropriado desde o momento da detecção, os pacientes com galactosemia clássica sofrem de deficiências importantes a médio e longo prazo, e este é outro argumento comum usado contra o rastreamento da galactosemia no PNTN. Todos os estudos que analisam a associação com a dieta concordam que as complicações de médio e longo prazo não estão relacionadas com a idade do diagnóstico, o início da restrição dietética ou a adesão rigorosa à dieta (Hughes *et al.*, 2009; Karadag *et al.*, 2013; Potter *et al.*, 2013; Schweitzer *et al.*, 1993; Shriberg *et al.* 2011; Wagoner *et al.* 1990). No estudo em que se relata o programa para rastreamento da galactosemia clássica na Irlanda demonstra-se que os pacientes não têm resultados favoráveis, apesar do sucesso no tratamento dos dias 1-2 da vida (Coss *et al.*, 2013), destacando que a exclusão de vestígios de galactose da dieta pode não ser totalmente justificável. Em estudos recentes provenientes deste centro sugere-se que certos indivíduos podem tolerar uma suplementação de galactose com baixa dose e que essa ingestão pode ser teoricamente benéfica porque levaria a mudanças em glicoproteínas (Knerr *et al.*, 2015; Coman *et al.*, 2010). Os autores argumentam que uma restrição rigorosa pode ser salvadora de vidas no período neonatal, mas, em longo prazo, poderia contribuir para um curso com anormalidades sistêmicas (Coman *et al.*, 2010).

Um dos princípios mais importantes do rastreamento é que o benefício do programa de triagem deve sempre superar qualquer dano físico e / ou psicológico causado pelo teste, o procedimento de diagnóstico ou o tratamento. Em relação à galactosemia, o dano da triagem deriva principalmente dos FPs, que causam ansiedade em pais / parentes até que os resultados sejam confirmados. Os poucos estudos incluídos que permitiram o cálculo da taxa de FP mostraram resultados altamente variáveis, o que poderia ser atribuído ao uso de diferentes testes de verificação e diferentes pontos de corte (atividade GALT $\leq 15\%$ até $\leq 30\%$), destacando as grandes incertezas que existem em relação aos resultados das formas variantes de galactosemia que também se apresentam com enzimas com atividade reduzida. As poucas evidências encontradas sugerem que a gravidade clínica está associada à atividade GALT ausente ou residual, mas a relação entre a atividade da GALT e os resultados em longo prazo nem sempre é de correlação direta. Foram encontrados casos atípicos em que indivíduos com Q188R homocigotos e atividade GALT gravemente reduzida apresentaram um fenótipo leve (Panis B), levando à confusão do que constitui uma galactosemia clássica.

Embora a literatura publicada não reflita bem as características operacionais dos programas existentes de TN, foi encontrado um estudo que relata uma estratégia de triagem eficaz com um VPP de mais de 60%, o que pode permitir uma carga mais baixa quanto ao acompanhamento clínico de crianças (Ohlsson *et al.*, 2012). De acordo com os autores deste estudo (Ohlsson *et al.*, 2012), a redução da taxa de FP em relação a outros estudos publicados é uma estratégia de dois níveis, com o primeiro nível consistindo na determinação semi-quantitativa da enzima GALT (Teste de Beutler) e o segundo, de medição quantitativa de Gal e Gal-1-P (teste Rap-Gal-DH) na mesma amostra. Argumenta-se neste que a determinação da enzima GALT em primeiro lugar, em vez de segunda, permite diminuir o ponto de corte do Teste de Beutler de $\leq 30\%$ para $\leq 15\%$ e aumentar o ponto de corte Gal-1-P para $\geq 1,5$ mmol / L, o que poderia auxiliar a reduzir os FPs para níveis mais aceitáveis. Assim, haveria uma menor probabilidade de ter as formas heterozigóticas leves ou as variantes Duarte 2 benignas classificadas como positivas. Couce *et al.* (2011) discutem que o VPP elevado observado na Galícia em todas as doenças detectadas pelo MS / MS pode ser, em parte, porque uma segunda amostra é solicitada antes de enviá-la para a unidade clínica e que os resultados são confirmados usando a análise na urina antes, para verificação de diagnóstico.

A falta de diferenciação de neonatos que são heterozigotos, compostos para uma mutação severa e a variante Duarte, é considerada uma questão importante porque pode levar a uma restrição dietética desnecessária. Os portadores da Duarte 2 são geralmente assintomáticos e pesquisas recentes sugerem que o prognóstico pode ser bom independentemente do



tratamento (Ficicioglu *et al.*, 2008). O único estudo que indica mais problemas educacionais é de pequeno porte, apresenta vieses importantes e diferenças não significativas entre os grupos avaliados (Powell *et al.*, 2009).

Atualmente, não há consenso quanto ao tratamento desses pacientes e na maioria dos programas opta-se pela terapia conservadora. À luz das descobertas atuais, considera-se importante que as recomendações gerais sejam revisadas, bem como as atuais estratégias de trabalho. Para este fim, seria essencial contar com informações adicionais provenientes de centros experientes que alcançaram uma carga muito baixa de FPs porque, a evidência publicada é limitada. Alguns dos estudos incluídos sustentam que um teste de diagnóstico molecular deve ser realizado para identificar as variantes Duarte 2 (Viggiano *et al.*, 2015). Outros, tais como Ohlsson *et al.* (2012), consideram que isso pode ser conseguido baixando os valores de corte de galactose e GALT.

Até a data, não existem estudos comparativos adequados que permitam determinar a eficácia do teste para a galactosemia no programa de TN, em comparação a não triagem ou a outras medidas de prevenção secundária destinadas a prevenir a mortalidade precoce (protocolos de alerta, triagem oportunista). A fraca diferença nos números sobre mortalidade antes e depois da triagem na Suécia apoia a implementação de teste de galactosemia nos programas de TN, mas, porque o período anterior é até 1967, não pode ser descartado que essas diferenças possam ser em parte causadas por mudanças no diagnóstico e estratégias de gerenciamento dos testes e dos casos. Ao contrário, o estudo britânico mostra uma frequência similar de casos graves e óbitos nas regiões com triagem e sem triagem (28% versus 20%) (Honeyman *et al.*, 1993), mas este estudo é altamente tendencioso, porque não pode ser assegurado que os bebês que morreram nas regiões com triagem foram dos rastreados.

A literatura revisada mostra que existe uma variação considerável na inclusão do teste para galactosemia nos programas de TN internacionais. Isso é comum também para muitas outras condições metabólicas, subjacentes às diferentes considerações para a tomada de decisões em todo o mundo. Globalmente, o consenso só existe para fenilcetonúria e hipotireoidismo congênito, que são condições relativamente frequentes e para as quais existem testes efetivos e ganhos de saúde que foram conclusivamente demonstrados (Burgard *et al.*, 2012). Muitos dos programas europeus de saúde pública também incluem acidemia isovalérica, acidúria glutárica, doença de urina de xarope [*Maple syrup*], homocistinúria e desidrogenase acil-CoA de cadeia média a longa, apesar de os pontos de corte ainda estarem em debate e existirem dúvidas quanto à classificação errada de pacientes, porque parece claro que existem importantes problemas de saúde em que um diagnóstico precoce poderia de forma conclusiva evitar danos sérios e irreversíveis. Pelo contrário, condições como homocistinúria, acidemia de metilmalônica, acidemia propiônica e distúrbios do ciclo da ureia só foram incluídas em alguns países, fundamentalmente em países que adotaram programas de TN expandidos. Por exemplo, o Reino Unido não recomenda o rastreamento dessas doenças com base em que a evidência não é considerada de qualidade alta o suficiente para garantir que a triagem seja bem-sucedida ou seja superior à não-triagem na prevenção da mortalidade e / ou deficiências de longo prazo. Em consonância com as recomendações que foram consenso na enquete da União Europeia sobre o programa para TN (Burgard *et al.*, 2012), considera-se importante a colaboração no campo dos programas para TN, de modo a unificar critérios e recomendações.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não há evidências sólidas para estabelecer a adequação da rotina de testagem para galactosemia no PNTN, embora seja possível esperar benefícios caso o diagnóstico e tratamento precoce sejam efetivos, especialmente em populações com maior frequência de doenças. Os dados publicados sustentam que as manifestações graves e óbitos poderiam ser reduzidos / evitados se o diagnóstico e o tratamento pudessem ser iniciados na primeira semana de vida, embora não fosse possível identificar a idade média da apresentação dos sintomas. As avaliações de acompanhamento não dão suporte a um melhor resultado em longo prazo para pacientes com o início precoce do tratamento em comparação com pacientes diagnosticados com base em sintomas clínicos. Alguns estudos recentes postulam que a restrição dietética em longo prazo



pode ser prejudicial porque poderia contribuir com algumas características clínicas da galactosemia, mas isso deve ser confirmado com dados adicionais.

A literatura revisada mostra uma ampla variação nos métodos de triagem e valores de corte dos testes, destacando a incerteza que existe em relação à classificação e ao tratamento de formas variantes de deficiência parcial de GALT. Estudos recentes observam que é importante evitar a classificação errônea das formas Duarte 2, uma vez que os resultados em longo prazo parecem ser independentes da adesão ao tratamento dietético. Foi identificado um método eficaz de rastreamento com um VPP de mais de 60%, o que proporciona uma carga mais leve no acompanhamento clínico de lactentes com resultados de FP. Os custos adicionais envolvidos na implementação de um programa de triagem baseado na população devem ser levados em consideração na tomada de decisões. Na Espanha, incluir a galactosemia no programa de triagem expandida MS / MS, não foi considerado como uma abordagem custo-efetiva, embora seja possível que esses resultados não sejam totalmente aplicáveis a outros métodos ou populações. Em qualquer caso, devido às incertezas que subsistem, considera-se que, antes de considerar a inclusão da galactosemia em qualquer programa de TN, seria importante que um estudo piloto fosse implementado para garantir que o diagnóstico precoce não pode ser adiado e para avaliar a capacidade do sistema de saúde de absorver a carga de trabalho extra resultante do rastreamento que poderia ser aumentada ainda mais como resultado de uma alta taxa de FPs. Em vista da grande variabilidade observada, também considera-se que é necessário atualizar e revisar as recomendações antigas e internacionais para a triagem inicial e contínua, bem como para o tratamento. Para uma melhor compreensão das vantagens do programa de TN, seria importante elaborar estudos prospectivos de acompanhamento comparando populações rastreadas e não rastreadas.

11. RECOMENDAÇÃO INICIAL DA CONITEC

Uma recomendação preliminar de não incorporação foi emitida pelo Plenário da CONITEC após discussão sobre a “proposta de triagem da galactosemia no Programa Nacional de Triagem Neonatal” (“teste do pezinho”) frente às respostas aos 18 critérios da Organização Mundial da Saúde, enfatizando-se que não traz benefícios aos recém-nascidos uma vez que os sintomas ocorrem entre 3 horas e o 3º. dia, não modifica as condutas (TNPN é colhido no 7º. dia, e dá respostas em 20 a 30 dias) e nem as sequelas em longo prazo

Pelo exposto, a CONITEC, em sua 66ª reunião ordinária, recomendou a não incorporação no SUS da “proposta de triagem da galactosemia no Programa Nacional de Triagem Neonatal” (“teste do pezinho”). Considerou-se que esta tecnologia se encontra já incorporada na Tabela do SUS para exame com os códigos 0202050246 e 0202010457, respectivamente para os procedimentos de **PESQUISA DE GALACTOSE NA URINA** e **DOSAGEM DE GALACTOSE**, ambos com descrição incluindo as modalidades de serviços ambulatoriais ou hospitalares (Amb./H.D./Hosp) na TABELA do SUS, sendo seu ressarcimento sem limitações se as instituições ou jurisdições procederem a programas de detecção local. Saliencia-se, nestes casos, que as conclusões do relatório foram de novo enfatizadas, no sentido que se faça após anamnese, precocemente, em sala de parto ou antes do 3º dia nos casos com suspeita para representar um uso eficiente destes recursos.

12. CONSULTA PÚBLICA

A consulta pública foi realizada entre os dias 25/05/2018 e 13/06/2018. Foram recebidas 14 contribuições durante a consulta pública que tratou da demanda sobre a “proposta de triagem da galactosemia no Programa Nacional de Triagem



Neonatal (“teste do pezinho”). Convém observar que somente são consideradas contribuições de consulta pública aquelas que foram encaminhadas no período estipulado e por meio do site da CONITEC, em formulário próprio.

Dentre as contribuições enviadas, 71% (n= 10) se referiram a contribuições de profissionais de saúde e 29% (n= 4) de outros interessados no tema. Todas as contribuições foram analisadas pela Secretaria-Executiva e pelo Plenário da CONITEC em 2 de agosto de 2018 durante reunião da CONITEC.

Entre as 02 contribuições (14%) que testemunharam de concordância parcial com a recomendação da CONITEC, 1 não apresentou sugestões adicionais e a outra apresentou elogios ao Alerta da ANVISA sobre a proibição de produtos diagnósticos que utilizam a enzima MutQ-GDH, onde identificam galactose como glicose |Alerta de Tecnovigilância da Anvisa (Alerta 1596 de jun/2015: tiras de glicemia baseadas na enzima MutQ-GDH, que falseia resultados de glicemia e retardam o possível diagnóstico de hipoglicemia. A hipoglicemia associada a hipotonia é um dos primeiros sintomas da galactosemia.). Esta contribuição enfatizou a necessidade do diagnóstico clínico precoce, levantamento de incidência da doença, com publicação do protocolo que deve incluir o monitoramento da glicemia em recém-nascidos utilizando sistemas de medição com tiras não Mut Q-GDH.

Dentre as 12 contribuições que discordaram totalmente da recomendação preliminar da CONITEC, houve 5 (35%) que não apresentaram sugestões adicionais, 1 (7%) que apresentou comentários referente a outra tecnologia diversa e outras 6 tinham comentários substantivos, 4 inclusive com sugestões adicionais: duas delas contribuíram com 2 publicações anexadas, que já haviam sido consideradas no texto, bem como houve 2 citações adicionais, igualmente consideradas em uma das revisões sistemáticas abordadas no texto do Relatório Técnico. Entre as razões para a discordância figuram: (i) seu uso difundido na rede privada, onde pode haver afrodescendentes homocigotos, e como o teste é sempre confirmado positivo com outros métodos não teria importância as limitações em falsos positivos, (ii) seu uso nos Estados Unidos também na rede privada a despeito das limitações citadas em falsos positivos, e destacou-se (iii) a argumentação de formação insuficiente dos médicos, sem habilitação para a detecção e diferenciação dos casos, o que impediria o diagnóstico precoce da galactosemia e traria mais desfechos de mortalidade neonatal ou sequelas que custariam mais caro que pagar o exame na gota seca citando o exemplo da triagem neonatal para galactosemia, que é feita no Distrito Federal há 6 anos, por força de Lei (Lei Distrital nº 4.190 2008). Em 10 anos de triagem houve suspeita de 54 casos de galactosemia (teste e re-teste positivos). Os pacientes triados são encaminhados para o ambulatório de genética. Destes, a atividade da GALT foi normal em 33,3% dos casos, baixa a moderada em 47,4% e indetectável ou muito baixa em 19,3%. Este último grupo foi considerado portador de galactosemia clássica. O teste de rastreamento através da medição da GALT e GAL-1-P é seguro e efetivo, conforme depoimento da médica geneticista da equipe. A dieta restritiva foi iniciada em todos com alteração da enzima e nos que apesar da atividade da enzima normal mantinham hipergalactosemia. Os pacientes apresentam acompanhamento regular no ambulatório de galactosemia, com equipe multidisciplinar e menos de 10% apresentam algum comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor. Nesse período apenas 1 paciente apresentou sepse (não confirmada por *E. coli*). A experiência do serviço de triagem neonatal do Distrito Federal é percebida como mostrando grande benefício pois considerou que 10/54 casos é um número expressivo com galactosemia clássica que apresentam boa evolução clínica dentre as 398.031 crianças nascidas no DF e triadas.

Ressaltaram-se finalmente 2 pontos: (i) que o conteúdo de todas as contribuições foram analisadas pela Secretaria-Executiva e pelo Plenário da CONITEC, e (ii) esta tecnologia se encontra já incorporada na Tabela do SUS para exame com o código 0202050246 e o código 0202010457, respectivamente para **PESQUISA DE GALACTOSE NA URINA** e **DOSAGEM DE GALACTOSE**, ambos com descrição incluindo as modalidades de serviços Ambulatoriais ou Hospitalares (Amb./H.D./Hosp) na TABELA do SUS, sendo seu ressarcimento sem limitações se as instituições ou jurisdições procederem a programas de detecção local. Salienta-se, nestes casos, que as conclusões do relatório foram de novo enfatizadas, no sentido que se faça após anamnese, precocemente, em sala de parto ou antes do 3º. dia nos casos com suspeita para representar um uso eficiente destes recursos.



13. RECOMENDAÇÃO FINAL DA CONITEC

Os membros da CONITEC presentes na 69ª reunião ordinária do plenário do dia 02/08/2018, após realizada a avaliação das sugestões, deliberaram por unanimidade pela não incorporação do teste GAL na gota seca do PNTN, a tecnologia demandada. Foi assinado o Registro de Deliberação nº 361/2018.

14. DECISÃO

PORTARIA Nº 45, DE 30 DE OUTUBRO DE 2018

Torna pública a decisão de não incorporar a detecção da galactosemia no teste do pezinho para deficiência de galactose-1-Puridil transferase no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

O SECRETÁRIO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, no uso de suas atribuições legais e com base nos termos dos art. 20 e art. 23 do Decreto 7.646, de 21 de dezembro de 2011, resolve:

Art. 1º Não incorporar a detecção da galactosemia no teste do pezinho para deficiência de galactose-1-P-uridil transferase no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Art. 2º O relatório de recomendação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC) sobre essa tecnologia estará disponível no endereço eletrônico: <http://conitec.gov.br/>.

Art. 3º A matéria poderá ser submetida a novo processo de avaliação pela CONITEC caso sejam apresentados fatos novos que possam alterar o resultado da análise efetuada.

Art. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

MARCO ANTONIO DE ARAUJO FIREMAN



15. REFERÊNCIAS

1. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Déryc V (2008) Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ* 2008;86:317–319.
2. Badawi N, Cahalane SF, McDonald M et al (1996) Galactosaemia—a controversial disorder. Screening & outcome. Ireland 1972–1992. *Ir Med J* 1996;89:16–17.
3. Beigi B, O’Keefe M, Bowell R, Naughten E, Badawi N, Lanigan B (1993) Ophthalmic findings in classical galactosaemia—prospective study. *Br J Ophthalmol* 1993;77:162–164.
4. Berry GT. Galactosemia: When is it a newborn screening emergency? *Mol. Genet. Metab.* 2012;106:7–11.
5. Bosch AM, Bakker HD, Wenniger-Prick LJ, Wanders RJ, Wijburg FA (2004a) High tolerance for oral galactose in classical galactosaemia: dietary implications. *Arch Dis Child* 2004;89:1034–1036.
6. Bosch AM, Grootenhuis MA, Bakker HD, Heijmans HS, Wijburg FA, Last BF (2004b) Living with classical galactosemia: health-related quality of life consequences. *Pediatrics* 2004;113:e423–428.
7. Boutron A, Marabotti A, Facchiano A et al (2012) Mutation spectrum in the French cohort of galactosemic patients and structural simulation of 27 novel missense variations. *Mol Genet Metab* 2012;107:438–447.
8. Broomfield A, Brain C, Grunewald S. Galactosaemia: diagnosis, management and long-term outcome. In SYMPOSIUM: INBORN ERRORS OF METABOLISM. PAEDIATRICS AND CHILD HEALTH 2015;25(3):113-118.
9. Burgard P, Cornel M, Di Filippo F et al. (2012) Report on the practices of newborn screening for rare disorders implemented in Member States of the European Union, Candidate, Potential Candidate and EFTA Countries. EU Tender “Evaluation of population newborn screening practices for rare disorders in Member States of the European Union”. 2012; Disponível na internet no Link: http://ec.europa.eu/chafea/documents/news/Report_NBS_Current_Practices_20120108_FINAL.pdf (15/02/2018).
10. Calderon FR, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation database for the galactose-1-phosphate uridyltransferase (GALT) gene. *Hum Mutat.* 2007 Oct;28(10):939-43.
11. Camelo Junior JS, Fernandes MIM, Jorge SM, Maciel LMZ, Santos JLF, Camargo Jr. AS, Passador CS, Camelo SHH. Avaliação econômica em saúde: triagem neonatal da galactosemia. /Newborn screening for galactosemia: a health economics evaluation. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2011 abr;27(4):666-676.*
12. Canadian Organization for Rare Disorders, CODR. Newborn Screening in Canada Status Report. In Canadian PKU and Allied Disorders Inc. (CanPKU) 2015 September 3:1-3.
13. Coman DJ, Murray DW, Byrne JC et al (2010) Galactosemia, a single gene disorder with epigenetic consequences. *Pediatr Res* 2010;67:286–292.
14. Comeau AM, Larson C, Eaton RB (2004) Integration of new genetic diseases into statewide newborn screening: New England experience. *Am J Med Genet C: Semin Med Genet* 2004;125C:35–41.
15. Coss KP, Doran PP, Owwoye C et al (2013) Classical Galactosaemia in Ireland: incidence, complications and outcomes of treatment. *J Inherit Metab Dis* 2013;36:21–27.
16. Couce ML, Castineiras DE, Boveda MD et al (2011) Evaluation and long-term follow-up of infants with inborn errors of metabolism identified in an expanded screening programme. *Mol Genet Metab* 2011;104:470–475.
17. Doyle CM, Channon S, Orłowska D, Lee PJ (2010) The neuropsychological profile of galactosaemia. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:603–609.
18. Ficioglu C, Thomas N, Yager C et al (2008) Duarte (DG) galactosemia: a pilot study of biochemical and neurodevelopment assessment in children detected by newborn screening. *Mol Genet Metab* 2008;95:206–212.
19. Fingerhut R, Torresani T (2013) Evaluation of the genetic screening processor (GSP (TM)) for newborn screening. *Anal Methods* 2013;5:4769–4776.



20. Freer DE, Ficioglu C, Finegold D (2010) Newborn screening for galactosemia: a review of 5 years of data and audit of a revised reporting approach. *Clin Chem* 2010;56:437–444.
21. Fujimoto A, Okano Y, Miyagi T, Isshiki G, Oura T (2000) Quantitative Beutler test for newborn mass screening of galactosemia using a fluorometric microplate reader. *Clin Chem* 2000;46:806–810.
22. Garcia DF, Camelo Jr JS, Molfetta GA, Turcato M, Souza CFM, Gilda Porta G, Steiner CE e Silva Jr WAS. Clinical profile and molecular characterization of Galactosemia in Brazil: identification of seven novel mutations. *BMC Medical Genetics* 2016;17:39-47. DOI 10.1186/s12881-016-0300-8.
23. García Pérez L, Valcárcel Nazco C, Castilla Rodríguez I et al. (2013) Cost-effectiveness of the newborn screening of classic galactosemia. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. 2013.
24. Gort L, Boleda MD, Tyfield L, Vilarinho L, Rivera I, Cardoso ML (2006) Mutational spectrum of classical galactosaemia in Spain and Portugal. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:739–742.
25. Greber-Platzer S, Guldberg P, Scheibenreiter S et al (1997) Molecular heterogeneity of classical and Duarte galactosemia: mutation analysis by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum Mutat* 1997;10:49–57.
26. Gubbels CS, Land JA, Evers JL et al (2013) Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: role of FSH dysfunction and timing of the lesion. *J Inherit Metab Dis* 2013;36:29–34.
27. Guthrie R, Susi A (1963) A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963;32:338–343.
28. Guthrie R. Screening for “inborn errors of metabolism” in the newborn infant — a multiple test program. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1968;IV:92–98.
29. Hoffmann B, Wendel U, Schweitzer-Krantz S (2011) Cross-sectional analysis of speech and cognitive performance in 32 patients with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:421–427.
30. Hoffmann B, Dragano N, Schweitzer-Krantz S (2012) Living situation, occupation and health-related quality of life in adult patients with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:1051–1058.
31. Honeyman MM, Green A, Holton JB, Leonard JV (1993) Galactosaemia: results of the British Paediatric Surveillance Unit Study, 1988–90. *Arch Dis Child* 1993;69:339–341.
32. Hughes J, Ryan S, Lambert D et al (2009) Outcomes of siblings with classical galactosemia. *J Pediatr* 2009;154:721–726.
33. Item C, Hagerty BP, Muhl A, Greber-Platzer S, Stockler-Ipsiroglu S, Strobl W (2002) Mutations at the galactose-1-pyridyltransferase gene in infants with a positive galactosemia newborn screening test. *Pediatr Res* 2002;51:511–516.
34. Jumbo-Lucioni PP, Garber K, Kiel J et al (2012) Diversity of approaches to classic galactosemia around the world: a comparison of diagnosis, intervention, and outcomes. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:1037–1049.
35. Karadag N, Zenciroglu A, Eminoglu FT et al (2013) Literature review and outcome of classic galactosemia diagnosed in the neonatal period. *Clin Lab* 2013;59:1139–1146.
36. Kaufman FR, Loro FR, Azen C, Wenz E, Gilsanz V (1993) Effect of hypogonadism and deficient calcium intake on bone density in patients with galactosemia. *J Pediatr* 1993;123:365–370.
37. Kaufman FR, McBride-Chang C, Manis FR, Wolff JA, Nelson MD (1995) Cognitive functioning, neurologic status and brain imaging in classical galactosemia. *Eur J Pediatr* 1995;154:S2–5.
38. Knerr I, Coss KP, Kratzsch J et al (2015) Effects of temporary low-dose galactose supplements in children aged 5–12 y with classical galactosemia: a pilot study. *Pediatr Res* 2015;78:272–279.
39. Kozak L, Francova H, Fajkusova L et al (2000) Mutation analysis of the GALT gene in Czech and Slovak galactosemia population: identification of six novel mutations, including a stop codon mutation (X380R). *Hum Mutat* 2000;15:206.
40. Lak R, Yazdizadeh B, Davari M, Nouhi M, Kelishadi R. Newborn screening for galactosaemia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017, Issue 12. Art. No.: CD012272. DOI: 10.1002/14651858.CD012272.pub2.



41. Lindner M, Gramer G, Haege G et al (2011) Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases - report of 10 years from South-West Germany*. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:44.
42. Lund AM, Hougaard DM, Simonsen H et al (2012) Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands and Greenland-experience and development of a routine program for expanded newborn screening. *Mol Genet Metab* 2012;107:281–293.
43. Milankovics I, Schuler A, Kamory E et al (2010) Molecular and clinical analysis of patients with classic and Duarte galactosemia in western Hungary. *Wien Klin Wochenschr* 2010;122:95–102.
44. Murphy M, McHugh B, Tighe O et al (1999) Genetic basis of transferase-deficient galactosaemia in Ireland and the population history of the Irish Travellers. *Eur J Hum Genet* 1999;7:549–554.
45. Nelson CD, Waggoner DD, Donnell GN, Tuerck JM, Buist NR (1991) Verbal dyspraxia in treated galactosemia. *Pediatrics* 1991;88:346–350.
46. Nennstiel-Ratzel U, Luders A, Blankenstein O et al. (2012) National Screening Report Germany 2012. Deutsche Gesellschaft für Neugeborenen-Screening e. V 2012
47. Ng WG, Xu YK, Kaufman FR et al (1994) Biochemical and molecular studies of 132 patients with galactosemia. *Human Genet* 1994;94:359–363.
48. NNNSGRC National Newborn Screening and Genetics Resource Center in cooperation with the Child Bureau Genetic Services Branch and the Association of Public Health Laboratories. National Newborn Screening 2006 Incidence report. 2009;(August 2009).
49. OCEBM Levels of Evidence Working Group (2011) The Oxford 2011 Levels of Evidence. Disponível na internet no Link: <http://www.cebm.net/ocebmllevels-of-evidence/>
50. Ohlsson A, Guthenberg C, von Döbeln U (2012) Galactosemia screening with low false-positive recall rate: the Swedish experience. *JIMD Rep* 2012;2:113–117.
51. Ounap K, Joost K, Temberg T, Krabbi K, Tonisson N (2010) Classical galactosemia in Estonia: selective neonatal screening, incidence, and genotype/phenotype data of diagnosed patients. *J Inher Metab Dis* 2010;33:175–176.
52. Panis B, Forget PP, van Kroonenburgh MJ et al (2004) Bone metabolism in galactosemia. *Bone* 2004;35:982–987.
53. Panis B, Gerver WJ, Rubio-Gozalbo ME (2007) Growth in treated classical galactosemia patients. *Eur J Pediatr* 2007;166:443–446.
54. Pasquali M, Yu c, Coffee B on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee/ American College of Medical Genetics and Genomics ACMG STANDARDS AND GUIDELINES. Laboratory diagnosis of galactosemia: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). GENETICS in MEDICINE advance online publication 26 October 2017. doi:10.1038/gim.2017.172.
55. Phillips B, Ball C, Sackett D et al. Oxford Centre for Evidence Base Medicine-Levels of Evidence In Editor ed. ^eds. Book Oxford Centre for Evidence Base Medicine-Levels of Evidence. (March 2009)
56. Potter NL, Nievergelt Y, Shriberg LD (2013) Motor and speech disorders in classic galactosemia. *JIMD Rep* 2013;11:31–41.
57. Powell KK, Van Naarden BK, Singh RH, Shapira SK, Olney RS, Yeargin-Allsopp M (2009) Long-term speech and language developmental issues among children with Duarte galactosemia. *Genet Med* 2009;11:874–879.
58. Robertson A, Singh RH, Guerrero NV, Hundley E, Elsas LJ (2000) Outcome analysis of verbal dyspraxia in classic galactosemia. *Genet Med* 2000;2:142–148.
59. Rubio-Agusti I, Carecchio M, Bhatia KP et al (2013) Movement disorders in adult patients with classical galactosemia. *Mov Disord* 2013;28:804–810.
60. Schweitzer S, Shin Y, Jakobs C, Brodehl J (1993) Long term outcome in 134 patients with galactosaemia. *Eur J Pediatr* 1993;152:36–43.
61. Schulpis K, Papakonstantinou ED, Michelakakis H, Podskarbi T, Patsouras A, Shin Y (1997) Screening for galactosaemia in Greece. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1997;11:436–440.



62. Shah V, Friedman S, Moore AM, Platt BA, Feigenbaum AS (2001) Selective screening for neonatal galactosemia: an alternative approach. *Acta Paediatr* 2001;90:948–949.
63. Shriberg LD, Potter NL, Strand EA (2011) Prevalence and phenotype of childhood apraxia of speech in youth with galactosemia. *J Speech Lang Hear Res* 2011;54:487–519.
64. Suzuki M, West C, Beutler E (2001) Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. *Hum Genet* 2001;109:210–215.
65. Torres-Sepulveda MDR, Martinez-de Villarreal LE, Esmer C et al. (2008) Expanded newborn screening using tandem mass spectrometry: two years' experience in Nuevo Leon, Mexico. *Salud Publica Mex* 2008;50:200–206. [Spanish]
66. Tyfield L, Reichardt J, Fridovich-Keil J et al (1999) Classical galactosemia and mutations at the galactose-1-phosphate uridylyl transferase (GALT) gene. *Hum Mutat* 1999;13:417–430.
67. Van Calcar SC, Bernstein LE, Rohr FJ, Scaman CH, Yannicelli S, Berry GT (2014) A re-evaluation of life-long severe galactose restriction for the nutrition management of classic galactosemia. *Mol Genet Metab* 2014;112:191–197.
68. Viggiano E, Marabotti A, Burlina AP et al (2015) Clinical and molecular spectra in galactosemia patients with neonatal screening in northeastern Italy: structural and functional characterization of new variations in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Gene* 2015;559:112–118.
69. Waggoner DD, Buist NR, Donnell GN (1990) Long-term prognosis in galactosaemia: results of a survey of 350 cases. *J Inherit Metab Dis* 1990;13:802–818.
70. Waisbren SE, Potter NL, Gordon CM et al (2012) The adult galactosemic phenotype. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:279–286.
71. Walter JH, Collins JE, Leonard JV (1999) Recommendations for the management of galactosaemia. UK Galactosaemia Steering Group. *Arch Dis Child* 1999;80:93–96.
72. Widger J, O'Toole J, Geoghegan O, O'Keefe M, Manning R (2010) Diet and visually significant cataracts in galactosaemia: is regular follow up necessary? *J Inherit Metab Dis* 2010;33:129–132.
73. Zekanowski C, Radomyska B, Bal J (1999) Molecular characterization of Polish patients with classical galactosaemia. *J Inherit Metab Dis* 1999;22:679–682.