

Sequenciamento completo do
exoma para investigação etiológica
de deficiência intelectual de
causa indeterminada

Nº442
Março/2019



produto/procedimento

RELATÓRIO DE RECOMENDAÇÃO





2019 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

1. RESUMO EXECUTIVO	6
2. A DOENÇA	8
2.1 Aspectos clínicos e epidemiológicos da deficiência intelectual	8
3. A TECNOLOGIA	13
4. ANÁLISE DA EVIDÊNCIA	15
4.1 Evidência Clínica	15
4.2 Estudo econômico – análise de custo-efetividade	33
4.3 Análise de Impacto Orçamentário	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6. RECOMENDAÇÃO INICIAL DA CONITEC	42
7. CONSULTA PÚBLICA	43
8. RECOMENDAÇÃO FINAL DA CONITEC	50
9. DECISÃO	51
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXO 1	56
ANEXO 2	59
ANEXO 3	62



1. RESUMO EXECUTIVO

Tecnologia: Sequenciamento completo do exoma através de técnicas de sequenciamento de nova geração.

Indicação: Teste diagnóstico para deficiência intelectual de causa indeterminada, após resultado negativo ou inconclusivo do “chromosomal microarray”.

Demandante: Grupo elaborador do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas de Deficiência Intelectual.

Contexto: Deficiência intelectual, anteriormente denominada retardo mental, é uma condição etiologicamente heterogênea e clinicamente definida por limitações significativas do funcionamento intelectual e do comportamento adaptativo, iniciadas durante o período de desenvolvimento neuropsicomotor do indivíduo. A investigação diagnóstica da deficiência intelectual costuma ser complexa devido à heterogeneidade etiológica e à inespecificidade clínica desta condição. Diante dos recentes avanços da biologia molecular e mais especificamente das novas técnicas de sequenciamento de DNA, vários exames complementares tem despontado para incrementar a investigação etiológica da deficiência intelectual inespecífica, dentre eles, o sequenciamento completo do exoma.

Pergunta: Há evidência científica de acurácia diagnóstica do sequenciamento completo do exoma para deficiência intelectual inespecífica?

Evidências científicas: Foram feitas buscas de artigos científicos com os descritores relacionados à “deficiência intelectual”, “exoma” e “diagnóstico” nas bases de dados do PubMed, LILACS, CRD, The Cochrane Library e EMBASE. Há evidências indiretas da acurácia do uso diagnóstico do exoma para déficit intelectual inespecífico. O rendimento diagnóstico do teste variou entre 16% e 34% nos estudos observacionais localizados.

Estudo econômico: Foi desenvolvido estudo de custo-efetividade com um modelo do tipo árvore de decisão. O desfecho avaliado foi rendimento diagnóstico que é a razão entre o número de diagnósticos elucidados e o número total de indivíduos submetidos ao teste diagnóstico. As premissas utilizadas no modelo foram: um rendimento diagnóstico para o teste exoma de 38%, como descrito nesse parecer técnico científico para a revisão de 2018 e um rendimento diagnóstico para o microarray de 10%. De acordo com o modelo proposto, nenhuma estratégia foi dominante. A estratégia atualmente disponibilizada pelo SUS (**somente microarray**) é a que requer um maior custo por diagnóstico positivo (R\$ 8.000,00 por diagnóstico positivo), sendo que para as outras estratégias os custos por diagnóstico positivo são de R\$ 6.778,28 (exoma como primeira linha e microarray em segunda linha) e de R\$ 6.900,45 (microarray seguido de exoma). As duas estratégias em análise nos braços intervenção são mais eficazes, mas mais caras que a estratégia utilizada atualmente no SUS. As relações de custo efetividade incrementais são de R\$ 6.421,05/diagnóstico positivo quando se comparam as estratégias 2 e 3 (oferecer exoma seguido de microarray versus somente microarray) e de R\$ 6.578,94/diagnóstico positivo quando se comparam as estratégias 1 e 3 (oferecer microarray seguido de exoma versus somente microarray).

Avaliação de impacto orçamentário: Para que se ofereça o teste exoma para indivíduos sem diagnóstico resolutivo após a realização do teste microarray, presumindo-se uma manutenção da produção do SUS nos anos de 2017 e 2018 com aumento na produção desse exame de 56% ao ano e excluindo-se os custos com a compra dos equipamentos, infraestrutura e treinamento de pessoal, deve-se fazer um aporte de R\$ 120.000,00 no primeiro ano e de R\$ 909.000,00 em



cinco anos. O investimento para que se operasse em capacidade máxima de produção no setor público pressupondo que os oito centros credenciados em doenças raras no país atualmente oferecessem os exames seria cerca de 40 milhões de reais.

Recomendação inicial da CONITEC: Os membros da Comissão presentes na 70ª reunião realizada em 30 de agosto de 2018 deliberaram por unanimidade e de forma preliminar pela não incorporação do teste de sequenciamento do exoma para investigação diagnóstica da etiologia de deficiência intelectual de causa indeterminada. A Comissão entendeu que o exame não altera o curso da doença, é atualmente avaliado na literatura médica por meio de desfecho intermediário como o rendimento diagnóstico, faltando subsídios para avaliar o impacto da incorporação desse exame em desfechos importantes relacionados à doença. A matéria será encaminhada à consulta pública com recomendação inicial de não incorporação da tecnologia ao SUS.

Consulta pública: A Consulta Pública nº 48/2018 foi realizada entre os dias 11/10/2018 e 30/10/2018. Foram recebidas 92 contribuições, sendo 9 pelo formulário para contribuições técnico-científicas e 83 pelo formulário para contribuições sobre experiência ou opinião. Partindo de todas as contribuições a porcentagem de discordância com a recomendação inicial da CONITEC foi de 91%. Argumentou-se por meio das contribuições técnico-científicas que nenhum exame diagnóstico utilizado em deficiência intelectual inespecífica tem por objetivo modificar a história natural da doença e que os objetivos principais que se almeja se relacionam à possibilidade de aconselhamento genético e de evitar a recorrência da doença na família. Outra questão diz respeito ao impacto do diagnóstico pelo exoma na minimização da utilização de outros testes redundantes e desnecessários, realizados em busca de um diagnóstico definitivo. Esse efeito tem também repercussão positiva sobre a família que acompanha o indivíduo na busca pelo diagnóstico. Esses aspectos também estavam presentes nas contribuições recebidas por meio do formulário de experiência e opinião. Expressa-se aí a dificuldade relacionada à busca pelo diagnóstico, com enfoque no custo dos exames e aflição por não conseguir uma resposta definitiva para a condição que aflige os familiares. Dessa forma, após a apreciação das contribuições encaminhadas pela Consulta Pública o plenário da CONITEC considerou que houve argumentação suficiente para alterar a recomendação inicial.

Recomendação final da CONITEC: Aos 14 (quatorze) dias do mês de março de 2019, reuniu-se a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS – CONITEC, e os membros presentes deliberaram, por unanimidade, recomendar a incorporação do exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual de causa indeterminada como procedimento ambulatorial de alta complexidade não valorado na Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais Especiais do SUS, secundário ao procedimento 03.01.01.020-0 – Avaliação clínica para diagnóstico de doenças raras – Eixo I: 2 – Deficiência intelectual, com vistas ao aconselhamento genético, em conformidade com que estabelece a Portaria GM/MS nº 199/2014 (*) e mediante protocolo estabelecido Pelo Ministério da Saúde. Assinou-se o Registro de Deliberação número 431/2019.

Decisão: Incorporar o sequenciamento completo do exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual de causa indeterminada, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS. Dada pela Portaria nº 18, publicada no Diário Oficial da União nº 61, seção 1, página 98, em 29 de março de 2019.



2. A DOENÇA

2.1 Aspectos clínicos e epidemiológicos da deficiência intelectual

Deficiência intelectual, anteriormente denominada retardo mental, é uma condição etiologicamente heterogênea e clinicamente definida por limitações significativas do funcionamento intelectual e do comportamento adaptativo (incluindo autocuidados, atividades práticas e habilidades sociais) iniciadas durante o período de desenvolvimento neuropsicomotor do indivíduo (antes dos 18 anos)³⁻⁸. A prevalência da deficiência intelectual na população geral varia de 1 a 2%, sendo mais alta nos países em desenvolvimento e no sexo masculino e mais baixa nos países desenvolvidos e no sexo feminino^{6,7}.

O diagnóstico de deficiência intelectual é clínico-social; sendo classificada em leve, moderada, grave e profunda, de acordo com o coeficiente intelectual e do funcionamento adaptativo dos indivíduos^{4,5}. No Brasil, conforme dados do Censo Demográfico 2010⁹, há mais de 45 milhões de pessoas com pelo menos uma forma de deficiência, o que inclui não apenas deficiência intelectual, mas também deficiência física. A prevalência de indivíduos com deficiência intelectual na população brasileira é desconhecida, mas estima-se que, assim como ocorre em outros países em desenvolvimento, mais que 2% da nossa população apresente déficit intelectual^{6,7}, no entanto, o último Censo Demográfico registrou apenas 2,6 milhões de habitantes referidos com deficiência intelectual (o que corresponde a 1,4% da população)⁹.

Ao contrário do diagnóstico clínico da deficiência intelectual, que muitas vezes é dado sem muita dificuldade, a investigação do diagnóstico etiológico costuma ser complexa, dada a sua heterogeneidade etiológica. Além dos determinantes genéticos, vários agentes teratogênicos estão implicados nas causas da deficiência intelectual, como álcool etílico, agentes infecciosos, lesões disruptivas (como defeitos congênitos do sistema nervoso central), os quais apesar de serem congênitos, não necessariamente são geneticamente determinados.

Mesmo ao considerarmos apenas as causas genéticas de deficiência intelectual, é um desafio estabelecer um diagnóstico etiológico, sobretudo quando não é possível identificar um quadro sindrômico específico^{10,11,12}, visto que o déficit intelectual pode ser secundário a



aberrações cromossômicas numéricas ou estruturais, microdeleções ou microduplicações (desbalanços cromossômicos), defeitos gênicos (monogênicos ou oligogênicos) ou mesmo resultar da interação de fatores ambientais e genéticos, como acontece comumente nas doenças complexas de herança multifatorial^{10,13,14}.

Nas condições geneticamente determinadas, a deficiência intelectual pode ocorrer de forma isolada ou fazer parte de um quadro sindrômico, ou seja, além do déficit intelectual, o indivíduo apresenta outros sinais clínicos que em conjunto configuram um diagnóstico específico ou um quadro clínico específico, como por exemplo, a síndrome de Down ou trissomia do 21, que além do déficit intelectual o paciente apresenta sinais dismórficos faciais que sugerem um diagnóstico específico^{1,10}.

Em ambos os casos, seja deficiência intelectual não sindrômica ou sindrômica, há um impacto social negativo tanto para os acometidos, quanto para seus familiares¹⁵⁻¹⁷. Esclarecer o diagnóstico para esses indivíduos representa diminuição da ansiedade para os familiares e cuidadores, além da possibilidade do estabelecimento de conduta antecipatória, informações a respeito de prognóstico e a oferta de aconselhamento genético para o propósito e familiares¹⁷.

Do ponto de vista da investigação da etiologia genética, é consenso na literatura médica para casos de déficit intelectual não sindrômico ou inespecífico utilizar como teste genético de primeira linha os ensaios por microarranjos, os chamados “chromosomal microarrays” ou ainda cariótipo molecular, sendo incluídos nessa categoria o *array*-CGH, ou hibridização genômica comparativa, o SNP-*array* e a-GH, ou hibridização genômica em *arrays*^{1,12-20}. De fato, esta técnica proporciona uma cobertura ampliada do genoma, numa resolução 30 a 50 vezes superior ao oferecido pelo cariótipo convencional. Contudo, a maioria dos casos de deficiência intelectual inespecífica continua sem diagnóstico etiológico^{1,10,12,16,17,21-23}, posto que os “chromosomal microarrays” diagnosticam cerca de 10 a 20% dos casos de déficit intelectual inespecífico^{18,20,24}, frente ao cariótipo convencional (com bandamento G), o qual elucida apenas 3% desses casos¹⁸.

A partir de 2005, após o advento do sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing*), ocorreu o barateamento do sequenciamento do DNA decorrente



da comercialização dos sequenciadores de última geração (Gráfico 1), que permitem leituras com alto desempenho e geram dados massivos do genoma humano. Esta nova tecnologia propiciou que o sequenciamento completo do exoma (região codificante do genoma humano) despontasse como teste diagnóstico, extrapolando o contexto de pesquisa, ao qual estava restrito, devido ao seu alto custo inicial²⁵⁻²⁹. Este método tem sido aplicado cada vez mais na prática clínica como ferramenta diagnóstica, sobretudo para os quadros clínicos inespecíficos, de herança monogênica presumida (na qual há um único gene envolvido na doença), ou com grande heterogeneidade genética (múltiplos genes responsáveis pelo mesmo quadro clínico), diante dos quais é difícil estabelecer um único gene candidato para ser testado. Nessas ocasiões utilizar formas “multiplexadas” de testes genéticos, ao invés de testar vários genes em série, tem se mostrado uma estratégia interessante.

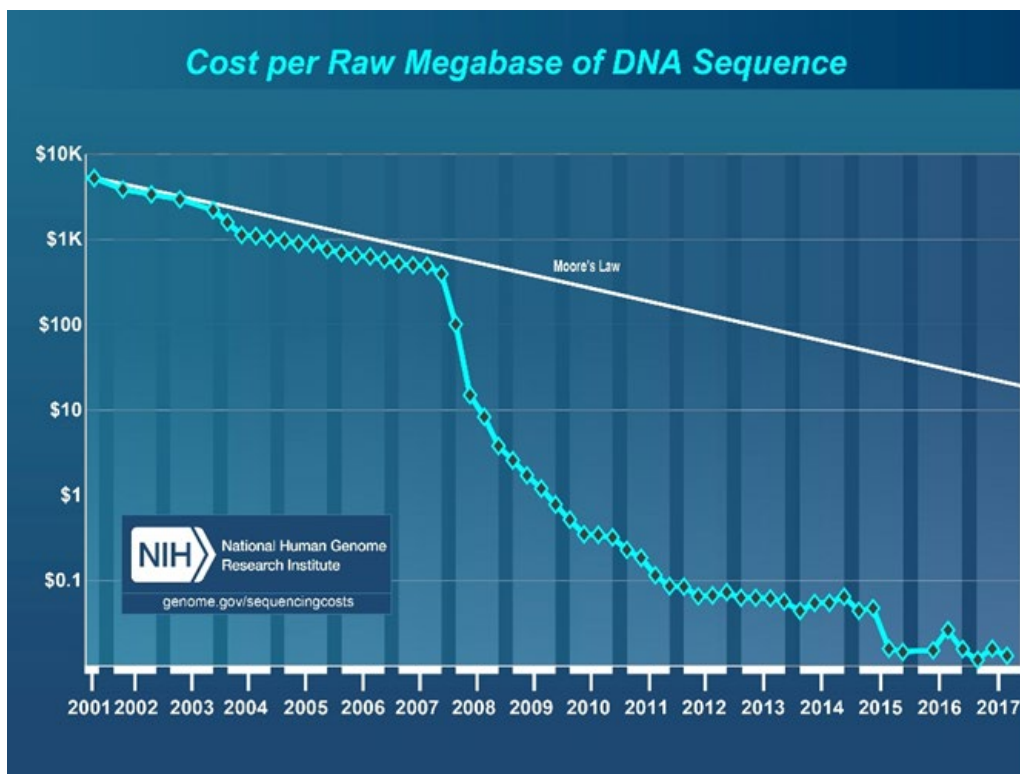


Gráfico 1 - Queda de custo por megabase de DNA sequenciada. **Fonte:** <http://www.genome.gov/images/content/cost>

Algumas publicações sugerem que o sequenciamento completo do exoma deve



substituir os ensaios por microarranjos como teste de primeira linha³⁰. Até o presente momento, estes testes têm sido usados em série, de forma sequencial, diante da ausência de mutações causais que possam esclarecer o diagnóstico com o uso do “chromosomal microarray”, ou seja, quando o resultado do teste é negativo, emprega-se o sequenciamento completo do exoma.

É válido ressaltar que os dois exames não necessariamente se sobrepõem, já que o exoma apresenta resultados predominantemente qualitativos e se concentra na análise das regiões codificantes do genoma, enquanto os ensaios por microarranjos apresentam uma cobertura mais ampliada e distribuída em todo o genoma, e oferecem resultados predominantemente quantitativos. Contudo há uma sobreposição ainda de magnitude indeterminada entre os dois exames, como é comum nas novas tecnologias que surgem na área médica^{16,30}.

É válido ressaltar que apesar da associação de diversas abordagens diagnósticas, incluindo ensaios por microarranjos e sequenciamento do exoma, a causa da deficiência intelectual inespecífica continua sem esclarecimento em 60 a 80% dos casos^{1,11}. Ao considerarmos apenas os casos de déficit intelectual grave, nos quais há maior chance do achado de um defeito genético causal, a taxa diagnóstica é de 42% após o sequenciamento completo do genoma, a técnica mais sensível disponível no momento, visto que sequencia virtualmente todo o genoma humano²⁴.

Recentemente no Brasil, a ANS incorporou como método complementar de diagnóstico, com diretriz de utilização, a hibridização genômica em *arrays* para casos de atraso de desenvolvimento neuropsicomotor ou deficiência intelectual, mas este teste genético não foi incorporado como exame diagnóstico de primeira linha, sendo exigido o cariótipo convencional, além de outros critérios clínicos³¹. Tal restrição ao uso da hibridização genômica em *arrays* aparentemente não embasada em evidência científica vai de encontro ao que está sendo defendido pela literatura médica^{10,14,17,18,20,21}.

No âmbito do SUS (Sistema Único de Saúde), a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras², oficializada pela Portaria Nº 199, de 30 de janeiro de 2014, publicada pelo Ministério da Saúde, prevê a realização de “chromosomal microarray” para investigação etiológica de condições clínicas que envolvem deficiência intelectual. Contudo, tanto o sistema público brasileiro, quanto o privado ainda não consideram a possibilidade de



utilizar o sequenciamento completo do exoma como exame diagnóstico, de forma sistemática. Este teste vem sendo custeado pelas próprias famílias dos pacientes, sem uma contrapartida dos sistemas de saúde, ou quando há este tipo de contrapartida, geralmente é via judicialização.

Diante das atuais perspectivas dos testes genômicos e das potenciais vantagens do uso do sequenciamento do exoma frente aos ensaios por microarranjos, como exame de primeira linha, o presente estudo tem como objetivo buscar as evidências disponíveis da acurácia diagnóstica do sequenciamento completo do exoma em comparação aos ensaios por microarranjos para pacientes com deficiência intelectual inespecífica.



3. A TECNOLOGIA

Tipo: Procedimento

Nome da Tecnologia: Sequenciamento de nova geração – sequenciamento completo do exoma.

Indicação proposta pelo demandante: Diagnóstico de deficiência intelectual de causa indeterminada.

Preço: R\$ 2.500,00 por teste.

Funcionamento da tecnologia: O material genético humano, ou genoma humano, é composto por DNA, ou ácido desoxirribonucleico, como é denominada sua estrutura química, organizado em dupla fita espiralada, distribuído tanto no núcleo celular (DNA nuclear), quanto dentro das mitocôndrias (DNA mitocondrial). O exoma é uma diminuta porção do genoma humano (Figura 1), que corresponde ao conjunto de todos os éxons do genoma, isto é, a porção codificante do genoma, ou ainda, a região do DNA que de fato é traduzida em proteínas. Quantitativamente o exoma responde por menos de 2% do genoma humano, mas é nesta pequena porção do DNA que se concentra a maioria das mutações com potencial patogênico e que são responsáveis pelas doenças determinadas geneticamente^{26,27}.

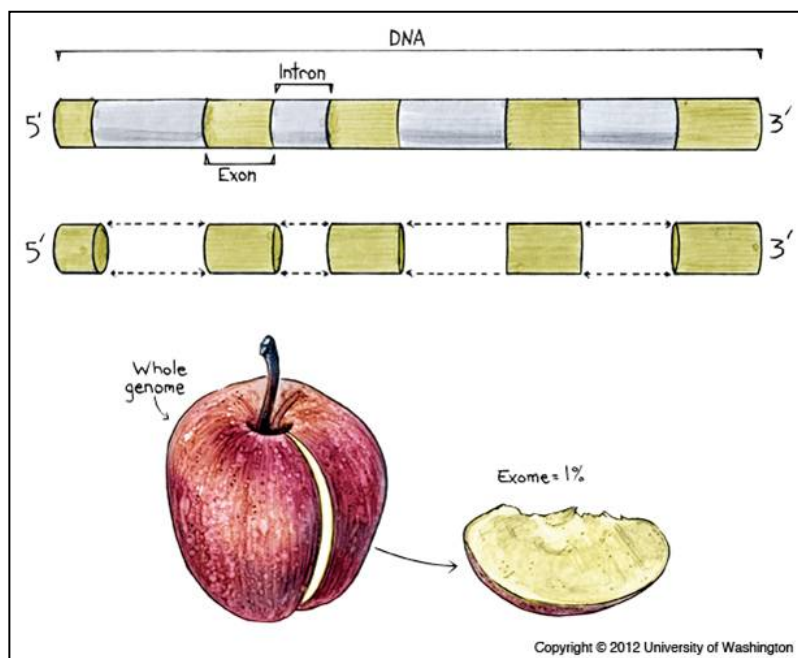


Figura 1 - Representação esquemática do exoma em comparação com o genoma humano.



O sequenciamento do DNA, ou melhor, a determinação da sequência de suas bases nitrogenadas (adenina, citosina, guanina ou timina) iniciou com um processo artesanal, descrito por Sanger²⁷; este método de eletroforese capilar para sequenciamento de DNA foi automatizado em meados de 1970, o que permitiu seu uso em larga escala e a elucidação de várias condições clínicas de base genética, de maneira que foi e ainda é de grande valia para a medicina³².

A partir de 2005, começaram a ser comercializadas, sobretudo em contexto de pesquisa, as novas plataformas de sequenciamento de DNA, providas de uma nova e mais eficiente tecnologia (sequenciamento de nova geração - *Next Generation Sequencing*) baseadas em sua maioria em clonagem *in vitro*, suporte sólido de sequenciamento e pirosequenciamento, abandonando a eletroforese em gel para separação de fragmentos e outras etapas laboriosas do processo de sequenciamento pelo método de Sanger^{26,27,32}.

Estas novas plataformas representadas pela 454 FLX da Roche, *Solexa da Illumina*, *SOLid System da Applied Biosystems*, *Ion Torrent da Life Technologies*, dentre outras, utilizam métodos diferentes do usado no sequenciamento convencional ou de Sanger e diferem entre si do ponto de vista de tecnologia de sequenciamento, mas possuem características em comum que serão ressaltadas e em conjunto as colocam em uma categoria de maior eficiência - o sequenciamento de nova geração^{28,33}.

Apesar de competirem comercialmente e de serem distintos metodologicamente, os sequenciadores de nova geração compartilham algumas características tecnológicas e geram informações massivas a respeito da sequência do DNA. Enquanto o sequenciamento pelo método de Sanger gera informações no nível de centenas de pares de base, o sequenciamento de nova geração é capaz de fornecer leitura de milhares de pares de base em uma única reação (corrida). Desta forma, com esta nova tecnologia é possível sequenciar vários genes em paralelo, o exoma inteiro, ou todo o genoma em uma única corrida; ao passo que com o sequenciamento por Sanger apenas é possível obter informações de fragmentos de genes²⁸.

Uma descrição mais detalhada do sequenciamento de nova geração está disponível no **ANEXO 1**.



4. ANÁLISE DA EVIDÊNCIA

Demandante: Grupo elaborador do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Deficiência Intelectual

Este estudo foi proposto em consideração à recém-publicada Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras² e elaboração de Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Deficiência Intelectual, na tentativa de reunir e analisar evidências científicas do uso do sequenciamento completo do exoma em comparação aos ensaios por microarranjos (hibridização genômica em arrays) para investigação diagnóstica dos indivíduos com deficiência intelectual de causa indeterminada.

4.1 Evidência Clínica

Baseando-se na metodologia PICO, determinaram-se os elementos constituintes da pergunta de pesquisa.

P: pacientes com deficiência intelectual de causa indeterminada

I: sequenciamento completo do exoma

C: Hibridização genômica em “arrays” (ou “chromosomal microarray”)

O: acurácia diagnóstica / rendimento diagnóstico

A partir da determinação dos elementos constituintes pela metodologia PICO elaborou-se a seguinte pergunta de busca: “Há evidência científica de maior acurácia diagnóstica do sequenciamento completo do exoma para deficiência intelectual de causa indeterminada em



comparação ao uso dos ensaios por microarranjos (hibridização genômica em arrays)? ”

Para compor o corpo da evidência científica, buscamos estudos originais, contendo dados primários do uso diagnóstico do sequenciamento completo do exoma e “chromosomal microarray” em pacientes com deficiência intelectual de causa indeterminada. Consideramos como desfecho o estabelecimento do diagnóstico através deste teste diagnóstico, independentemente do tipo de mutação encontrada. As buscas foram feitas nas bases de dados do PubMed, The Cochrane Library, Lilacs, CRD e EMBASE, os descritores usados em cada plataforma estão detalhadamente discriminados no **Quadro 1**.

A busca inicial foi realizada em 15/01/2015 e não houve restrição idiomática ou limitação no que diz respeito à data de publicação do artigo, ou grau da deficiência intelectual, ou idade dos pacientes.

Quadro 1 - Quadro resumo da estratégia de busca usada nas diversas bases de dados, considerar o operador booleano OR dentro das células e AND entre as células de uma mesma linha. Na última coluna está discriminada a quantidade de estudos em 15/01/15.

Descritores	Deficiência intelectual ou retardo mental	Sequenciamento completo do exoma ou exoma	Diagnóstico ou acurácia diagnóstica	Estudos encontrados
PubMed-MeSH	Intellectual disability OR Mental retardation	Exome	Diagnosis	146
LILACS (BIREME) – DeCS	Intellectual disability	Exome	Diagnosis	0
CRD	Intellectual disability	Exome	Diagnosis	1
The Cochrane Library	Intellectual disability	Exome	Diagnosis	0
EMBASE – Emtree	Intellectual impairment OR Mental deficiency	Exome OR Exome Sequencing	Diagnostic accuracy OR Diagnosis	339

Estratégias de busca: NCBI-PubMed: (“Intellectual Disability” OR “Mental retardation”) AND (“Exome”) AND “Diagnosis”; EMBASE: (“Intellectual Impairment” OR “Mental deficiency” OR “Developmental disorder” OR “Developmental delay”) AND (“Exome” OR “Whole Exome Sequencing”) AND (“Diagnostic Accuracy” OR “Diagnosis”); Center for Review and Dissemination (CRD): “Intellectual disability” AND “exome” AND “diagnosis”; LILACS: (“Intellectual disability” OR “Developmental delay”) AND “exome” AND “diagnosis”; THE COCHRANE LIBRARY: (“Intellectual disability OR Developmental disability”) AND (“exome” OR “ Exome sequencing”).

A busca supracitada também foi feita agregando os termos “chromosomal microarray analysis”, “chromosomal microarray” e “oligonucleotide array sequence analysis”



(Quadro 2), que seria o comparador, ou referência, ou o teste-padrão, mas essa estratégia de busca não resultou em nenhum artigo científico. Como o objetivo é avaliar a melhor evidência disponível da acurácia diagnóstica do uso do exoma para o diagnóstico de deficiência intelectual, abriu-se mão da comparação direta dessas duas estratégias, o que seria o estudo metodologicamente ideal, e sim avaliar o que há disponível hoje na literatura médica a respeito do assunto.

Quadro 2 - Quadro resumo da estratégia de busca proposta inicialmente nas diversas bases de dados, considerar o operador boleano OR dentro das células e AND entre as células de uma mesma linha. Na última coluna está discriminada a quantidade de estudos em 15/01/15.

Descritores	Deficiência intelectual ou retardo mental	Sequenciamento completo do exoma ou exoma	Ensaio por microarranjos	Diagnóstico ou acurácia diagnóstica	Estudos encontrados
PubMed-MeSH	Intellectual disability OR Mental retardation	Exome	Microarray analysis	Diagnosis	0
LILACS (BIREME) – DeCS	Intellectual disability	Exome	Microarray analysis OR Oligonucleotide array sequence analysis	Diagnosis	0
CRD	Intellectual disability	Exome	Chromosomal microarray	Diagnosis	0
The Cochrane Library	Intellectual disability	Exome	Microarray analysis OR Oligonucleotide array sequence analysis	Diagnosis	0
EMBASE - Emtree	Intellectual impairment OR Mental deficiency	Exome OR Exome Sequencing	Chromosomal microarray	Diagnostic accuracy OR Diagnosis	0

Em fevereiro de 2018 foi realizada uma nova busca com os mesmos termos, nas quatro principais bases de dados (PubMed, EMBASE, LILACS e The Cochrane Library) anteriormente utilizadas, no sentido de atualizar as evidências que embasaram este parecer. Para fins de sensibilização os descritores relacionados ao diagnóstico (“*diagnostic accuracy*” ou “*diagnosis*”)



foram excluídos da busca, de maneira que apenas os descritores relacionados ao déficit intelectual (“P”) e ao exoma (“I”) foram considerados. Esta última revisão datada de 26/02/208 resgatou um total de 4677 artigos, dos quais 1495 estavam em duplicatas e foram eliminados, de forma que foram filtrados 3182 artigos (4677 – 1495).



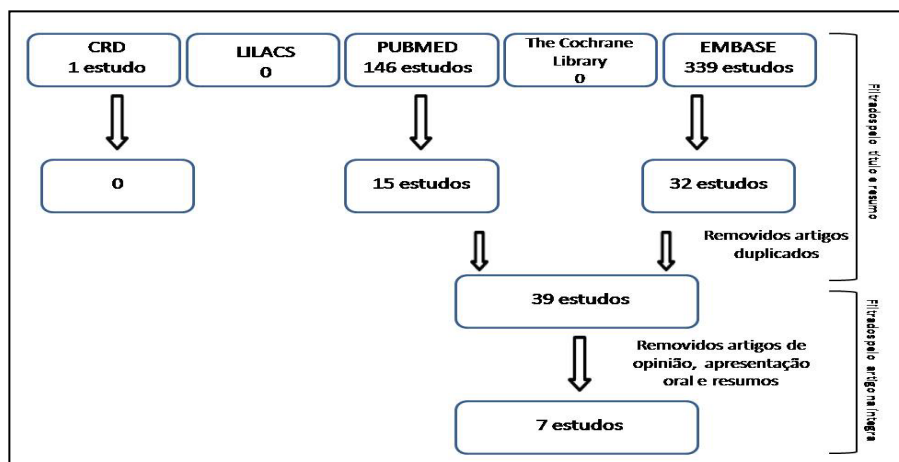
SELEÇÃO DOS ARTIGOS

A busca inicial (até 2015) resultou em 146 artigos científicos no PubMed, um único artigo na base de dados CRD e 339 estudos oriundos do EMBASE. Não foram identificados estudos relacionados ao tema a partir das plataformas LILACS e The Cochrane Library.

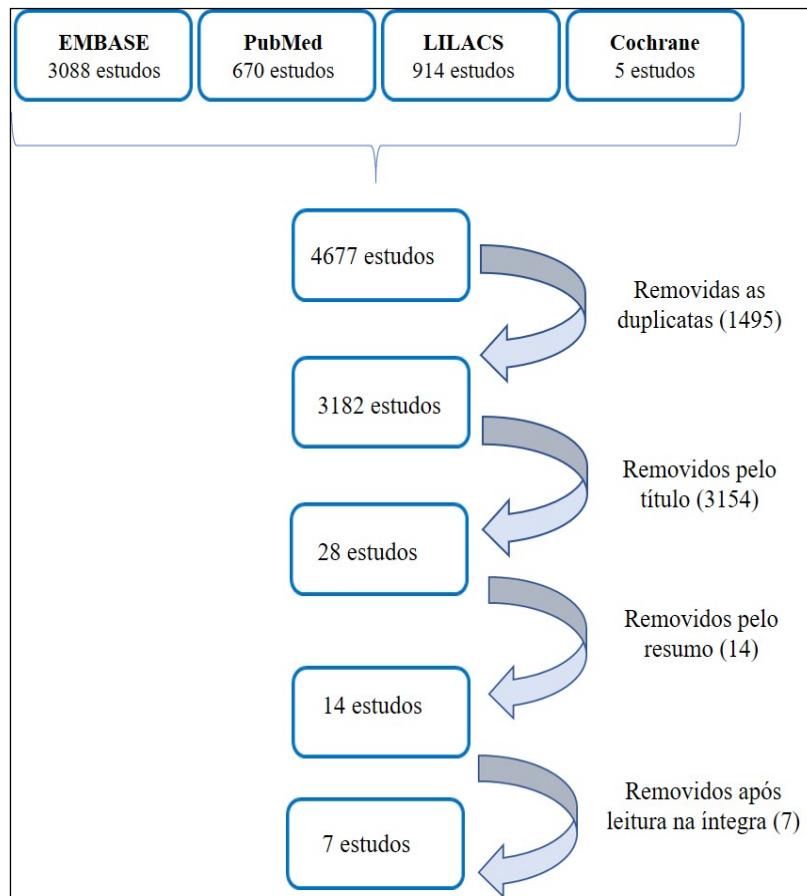
Inicialmente foram excluídos pelo título e resumo os estudos com abordagem doença-específica ou gene específica, pois os mesmos se limitam a um diagnóstico específico (Fluxograma 1), que não o de deficiência intelectual. Também foram removidos artigos que fogem do tema, como os que tratam de diagnóstico fetal ou pré-natal, os estudos em modelo animal e os não relacionados com deficiência intelectual.

Após este primeiro filtro restaram 47 artigos científicos provenientes das plataformas EMBASE e PubMed, dos quais oito estavam duplicados nas duas bases de dados. Os 39 estudos restantes (**ANEXO 2**) foram lidos na íntegra e foram eliminados os artigos de opinião, os que trazem uma reflexão sobre o tema e os de revisão descritiva (narrativa), que não trazem dados primários; também foram retirados os resumos e as apresentações orais. Enfim, restaram sete artigos, publicados a partir de 2012.

Na última revisão datada de fevereiro de 2018, dentre os 3182 estudos selecionados, 3154 foram removidos pela leitura do título, restando apenas 28 para seleção pelo resumo, dos quais 14 foram descartados por serem artigos de opinião ou por se tratarem de revisões narrativas (**o ANEXO 3 demonstra as causas de exclusão**) e dos 14 selecionados para leitura na íntegra do artigo, apenas 7 deles foram selecionados para compor o corpo da evidência (seleção dos artigos ilustrada no fluxograma 2). Vale aqui ressaltar que os mesmos critérios de inclusão e exclusão supracitados foram respeitados nesta nova busca.



Fluxograma 1. Seleção dos artigos oriundos da busca original realizada em 2015.



Fluxograma 2. Seleção dos artigos recrutados na busca atualizada em 2018.



DESCRIÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados para o desfecho rendimento diagnóstico dos artigos selecionados estão resumidos na **Tabela 1** e descritos abaixo. Entende-se aqui por rendimento diagnóstico como o número de pacientes com diagnóstico esclarecido pelo sequenciamento do exoma dividido pelo total de pacientes submetidos ao teste.

Rauch *et al*, 2012²¹

Rauch e colaboradores conduziram entre o período de fevereiro a novembro de 2011 um estudo caso-controle que recrutou 51 crianças, sendo 32 do sexo feminino e 19 do sexo masculino, provenientes da Alemanha e Suíça, com deficiência intelectual grave, cujos pais eram hígidos e não consanguíneos. Todos os casos tinham diagnóstico clínico de déficit intelectual não síndrômico e 48 deles apresentaram Q.I. abaixo de 60. Os pacientes já tinham sido previamente submetidos a investigação diagnóstica com cariótipo molecular com resultado dentro da normalidade. Como controle populacional, foram recrutados 20 trios (caso índice e seus respectivos pais) de pacientes diabéticos, totalizando 60 controles sem déficit intelectual. Os pais dos afetados também foram considerados controles familiares e ao todo foram sequenciados 213 exomas (51 casos + 102 pais dos afetados; 20 controles + 40 pais dos controles) através do sequenciador HiSeq 2000 com cerca de 90% dos nucleotídeos com uma cobertura de pelo menos 20X. A sensibilidade estimada para detecção de cada nucleotídeo foi de 97,5%. Dos 51 casos, 16 pacientes apresentaram mutação nova, em genes sabidamente envolvidos com retardo mental. Entretanto, duas mutações foram consideradas benignas e outras duas também não puderam ser implicadas com o diagnóstico de deficiência intelectual, de forma que em 12 dos 51 casos (23,5%) foi encontrada uma mutação causal que provavelmente está relacionada ao diagnóstico de deficiência intelectual não síndrômica.



Athanasakis *et al*, 2013³⁴

Neste estudo, os autores fizeram sequenciamento completo do exoma de nove pacientes com diagnóstico de deficiência intelectual não sindrômica de leve a moderada. Esses nove casos foram selecionados de uma coorte de 236 pacientes com déficit intelectual, dos quais 57 casos tiveram seu diagnóstico elucidado através de SNP Array. Dentre os 179 restantes, foram considerados critérios de inclusão para realização do exoma: cariótipo normal, teste molecular para síndrome do X frágil negativa e ausência de CNV's patológicas detectadas ao SNP array.

O sequenciamento do exoma foi realizado através da plataforma Illumina HiScanSQ com o kit comercial Tru Seq Exome Enrichment de 62Mb e cobertura média de 31 vezes. Dos 9 casos selecionados, três (33,33%) tiveram seu diagnóstico esclarecido (com mutações causais identificadas) após o uso do exoma.

Hamdam *et al*, 2014³⁷

Os autores sequenciaram o exoma de 41 indivíduos (18 do sexo masculino e 23 do sexo feminino), bem como de seus pais (não afetados). Todos os pacientes, recrutados após diagnóstico de déficit intelectual moderado ou grave, tinham resultado de hibridização genômica comparativa normal e não apresentavam sinais clínicos que sugerissem um quadro sindrômico. Os exomas foram sequenciados através do Illumina HiSeq2000. Em 12 dos 41 indivíduos estudados foram encontradas mutações novas em genes sabidamente envolvidos com deficiência intelectual, as quais foram consideradas responsáveis pelo diagnóstico de déficit intelectual (29%).

Helsmoortel *et al*, 2014¹²

Neste estudo foram selecionados dez pacientes com déficit intelectual inespecífico de leve a grave e sem diagnóstico molecular confirmado (previamente submetidos ao cariótipo convencional, SNP-array e teste molecular para síndrome do X frágil). O sequenciamento



completo do exoma foi feito através do HiSeq 2000 (Illumina) com cobertura média de 92X e três mutações causais distintas foram detectada em 3 indivíduos estudados (30% dos casos diagnosticados através do exoma).

Willemsen *et al*, 2014¹⁶

Os autores avaliaram uma série de 253 pacientes com diagnóstico de deficiência intelectual sem etiologia definida. O estudo foi dividido em duas fases: a primeira fase, denominada "Fase diagnóstica", e uma segunda fase, chamada "Fase de pesquisa relacionada ao diagnóstico". A primeira fase incluiu avaliação clínica e testes genéticos usados rotineiramente ("chromosomal microarray", testes metabólicos, teste molecular para Síndrome do X frágil). Nesta primeira fase do estudo o diagnóstico foi elucidado em 43 indivíduos (18,4%) dentre 234 testados. Na segunda fase, apenas 42 trios (caso índice + pais) tiveram seu exoma sequenciado. Dentre eles, 14 indivíduos afetados tiveram o diagnóstico estabelecido através da identificação de mutações novas (33,3%).

Ligt *et al*, 2012²²

Os autores avaliaram cem pacientes (53 mulheres e 47 homens) com déficit intelectual grave (Q.I. abaixo de 50) e seus respectivos pais não afetados; todos os pacientes foram submetidos a avaliação genético-clínica e extensiva investigação propedêutica complementar (inclusive com SNP array e testes metabólicos) e todos permaneceram sem diagnóstico etiológico. Cada trio teve seu exoma sequenciado através do SOLiD 4 System e 79 mutações novas foram identificadas, das quais 16 eram sinônimas (sem relevância clínica) e 63 eram não-sinônimas. Dentre as 63, apenas 13 foram descritas em genes sabidamente envolvidos com deficiência intelectual e foram consideradas causais. Outras 3 mutações novas em genes candidatos para déficit intelectual foram posteriormente implicadas no diagnóstico (a partir de uma série de 765 casos de déficit intelectual que confirmou os achados dos genes candidatos em outros pacientes com déficit intelectual). Sendo assim, dos cem casos analisados, o diagnóstico foi dado em 16 % deles pela realização do sequenciamento completo do exoma.



Ligt *et al*, 2013³⁰

Neste trabalho os autores sequenciaram o exoma de dez indivíduos com deficiência intelectual sabidamente com ao menos uma alteração do tipo CNV (*copy number variation*) detectadas através de SNP-array. Ao todo, os dez indivíduos possuíam 12 CNVs patológicas. O estudo tinha como objetivo investigar o potencial diagnóstico do exoma em detectar CNV com diferentes algoritmos analíticos. Onze dos 12 CNVs clinicamente relevantes foram detectados pelo sequenciamento completo do exoma (88,8% das variantes foram identificadas pelo novo método).

Tabela 1 - Resumo dos resultados dos artigos analisados.

Estudos analisados	Número total de casos testados por exoma	Número de casos diagnosticados e rendimento diagnóstico
Rauch <i>et al</i> , 2012	51	12 (23,5%)
Athanasakis, <i>et al</i> 2013	9	3 (33,3%)
Hamdam, <i>et al</i> 2014	41	12 (29,3%)
Helsmoortel, <i>et al</i> 2014	10	3 (30%)
Willemsen, <i>et al</i> 2014	42	14 (33,3%)
Ligt <i>et al</i> , 2012	100	16 (16%)

Obs. O estudo de Ligt *et al*, 2013 não foi incluído na tabela pois todos os pacientes que foram testados por exoma, sabidamente já apresentaram alteração ao “chromosomal microarray”.

Dentre os estudos selecionados após atualização da busca em 2018, é notório o aumento do número amostral, além da maior quantidade de estudos publicados a respeito do tema. Conforme esperado, há também um incremento do rendimento diagnóstico do exoma que nesta amostra é de 38,5% (301/780), o que confirma a tendência de aumentar o rendimento diagnóstico do teste à medida que se amplia o conhecimento a respeito de novos genes



relacionados ao fenótipo do déficit intelectual e também na medida em que se aprimora a interpretação das variantes genômicas identificadas pelo sequenciamento de nova geração. Cabe aqui salientar que há ainda perspectiva de um aumento no rendimento diagnóstico não relacionado ao que foi exposto acima, mas ao considerarmos a possibilidade de detecção de CNVs (“*copy number variation*”) pelo sequenciamento do exoma.

Entre o corpo da evidência atual, destaca-se o estudo observacional prospectivo de Yang e colaboradores que compreende uma amostra de 2000 casos consecutivos, dentre os quais 389 indivíduos não aparentados apresentam déficit intelectual e foram submetidos ao sequenciamento completo do exoma para fins diagnósticos e foram identificadas variantes causais em heterozigose, homozigose ou hemizigose em 143 casos.

O estudo realizado por Bowling recrutou um total de 127 pacientes com atraso de desenvolvimento neuropsicomotor ou déficit intelectual para sequenciamento do exoma e identificou variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em 38 casos. Como resultado adicional interessante este artigo revela ainda que no momento não há diferença significativa entre o rendimento diagnóstico do sequenciamento do exoma e o sequenciamento do genoma humano. O estudo demonstra também a importância da reanálise periódica dos casos sem diagnóstico em que foi possível identificar variantes de significado incerto (VOUS – *variant of unknown significance*), visto que este procedimento esclareceu 17 casos adicionais.

Monroe e colaboradores descrevem uma coorte de 86 pacientes com deficiência intelectual, dentre os quais 17 foram randomicamente selecionados e submetidos ao sequenciamento do exoma; em cinco indivíduos foram identificadas variantes causais (rendimento diagnóstico de 29,4%).

O estudo prospectivo descrito por Chérot selecionou 216 casos índice, dos quais 33 deles apresentavam déficit intelectual não sindrômico e 10 tiveram diagnóstico esclarecido após o emprego diagnóstico do exoma.



Os rendimentos diagnósticos dos artigos selecionados para compor o corpo da evidência pela busca atualizada em 2018 estão sumarizados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2 - Resumo dos resultados (desfecho: rendimento diagnóstico) dos 7 estudos selecionados em 2018.

Estudos analisados	Número total de casos testados por exoma	Número de casos diagnosticados e rendimento diagnóstico (%)
Anazi et al, 2017	129	77 (59,68%)
Bowling, et al 2017	127	38 (29,92%)
Chérot, et al 2017	33	10 (30,30%)
Monroe, et al 2016	17	5 (29,41%)
Srivastava, et al 2014	42	14 (33,33%)
Thevenon, et al, 2016	43	14 (32,55%)
Yang et al, 2014	389	143 (36,7%)
Total	780	301 (38,58%)

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA

De acordo com o método GRADE, a *priori*, a qualidade do corpo da evidência que embasa este parecer é baixa, por ser composta por estudos observacionais, cujos desfechos não são diretamente importantes para os pacientes (desfechos intermediários). Além da não diretividade do desfecho que avalia as intervenções diagnósticas em questão, há de se considerar as limitações metodológicas dos trabalhos, que implicam em alto risco de viés (seja viés de seleção, viés de inspeção ou viés de verificação), de acordo com aplicação do QUADAS 2, inerentes aos desenhos de estudo dos artigos revisados.

Outra fonte de evidência indireta é proveniente do próprio desfecho “rendimento diagnóstico”, posto que o mesmo não necessariamente permite uma comparação direta entre



a intervenção e o comparador, ou seja, entre o teste índice e o teste referência, diferentemente da acurácia diagnóstica, que é a medida preferida para medir o desempenho de intervenções diagnósticas (em termos de desfecho substituto), ou de outras medidas de performance do teste, como sensibilidade e especificidade. No entanto, vale ressaltar que para testes genéticos não encontramos estudos de acurácia diagnóstica, devido à ausência do padrão-ouro como teste referência, isto é, os novos testes genéticos em geral surgem com melhor resolução do que os testes anteriores e ao definirmos um padrão ouro na construção da tabela de contingência 2 x 2, assumimos que o desempenho do teste índice será subestimado em relação ao teste referência, pois os resultados tidos como falsos positivos com o teste índice, na verdade, são verdadeiros positivos, para os quais o teste referência não acusou este resultado por limitações de resolução (sensibilidade).

Entretanto, é válido ressaltar que o GRADE é um instrumento desenvolvido primariamente para avaliar estudos experimentais e não estudos observacionais. Além disso, deve ser destacada a dificuldade em elevar o nível da qualidade da evidência para a avaliação de testes diagnósticos que estabelecem a causa de entidades clínicas para as quais não há uma proposta terapêutica efetiva – nesses casos, o desfecho diretamente importante para o paciente se confunde com o próprio valor subjetivo do estabelecimento do diagnóstico etiológico, ou do impacto do mesmo na vida dos pacientes, seus familiares e cuidadores, pois não é razoável esperar mudança na morbimortalidade dos pacientes após o diagnóstico estabelecido. Em contrapartida, é válido ressaltar que não se trata de negar a utilidade e a aplicabilidade dos testes genéticos; mas sim de constatar que a mensuração da utilidade clínica dos mesmos, em termos de desfechos finais, não é realizada adequadamente.

Quadro 3 - Classificação da qualidade da evidência para cada pergunta de pesquisa.

DESFECHOS	RISCO DE VIÉS	INCONSISTÊNCIA	EVIDÊNCIA INDIRETA	IMPRECISÃO	VIÉS DE PUBLICAÇÃO	MAGNITUDE DE EFEITO	GRADIENTE DOSE-RESPOSTA	FATORES DE CONFUSÃO AUMENTAM A QUALIDADE	QUALIDADE
RENDIMENTO DIAGNÓSTICO DO CHROMOSOMAL MICROARRAY	ALTO RISCO* (-1)	SEM INCONSISTÊNCIA	GRAVE** (-1)	***SEM IMPRECISÃO	NÃO SE APLICA	GRANDE	NÃO SE APLICA	AUSENTE	BAIXA



*Alto risco de viés para a maioria dos estudos primários que compõem o corpo da evidência, de acordo com aplicação de instrumento de avaliação de risco de viés adaptado do QUADAS 2.

**Evidência indireta: o desfecho “rendimento diagnóstico” é um desfecho substituto, além de não prover comparação direta entre a intervenção e o comparador.

***Apesar de estimativas de efeito muito distintas provenientes de diferentes desenhos de estudos primários, alguns com tamanho amostral pequeno, atribui-se a diferença dos rendimentos diagnósticos prioritariamente ao viés de seleção dos artigos.

Dos sete artigos inicialmente analisados (primeira busca datada de 2015), todos são observacionais, do tipo coorte clínica, série de casos, ou ainda caso-controle diagnóstico, com alto risco de viés de acordo com o instrumento adaptado do QUADAS 2³⁵. A maioria desses estudos não foi desenhada para medir o desempenho do teste, ou a acurácia diagnóstica em termos de sensibilidade e especificidade.

Entretanto, o método GRADE categoriza como de baixa qualidade de evidência todos os estudos diagnósticos que medem apenas acurácia diagnóstica, ou outros desfechos substitutos relacionados à performance do teste exclusivamente, por não serem desfechos diretamente relevantes ou importantes para os pacientes. Por mais acurado que um diagnóstico seja, o estabelecimento do diagnóstico etiológico por si só não se traduz em melhorias ou benefícios para os pacientes. Sendo assim, o impacto desse diagnóstico para a população-alvo em termos de desfechos finais e importantes para os pacientes é que seria a medida de desfecho ideal, mesmo para mensurar as intervenções diagnósticas.

Em resumo, o corpo de evidência deste PTC é considerado de baixa qualidade já pelo desfecho escolhido nos trabalhos que o compõem. Além disso, nenhum trabalho citado aplica o teste diagnóstico avaliado (exoma) em paralelo com o teste padrão de referência (array-CGH ou SNP array). Ao contrário, todos os estudos aplicam os testes em série, isto é, o sequenciamento do exoma só é realizado nos indivíduos que apresentaram ensaio por microarranjos dentro da normalidade – isso ocorre sobretudo porque temporalmente o exoma surgiu para uso diagnóstico posteriormente à hibridização genômica em arrays, isto é, quando os estudos foram aplicar o exoma em um determinado grupo de pacientes com déficit intelectual, tais indivíduos já tinham sido testados com a hibridização genômica em arrays.

Este tipo de abordagem, por não demonstrar uma comparação direta entre as duas técnicas, não fornece os dados necessários para preencher a tabela de contingência 2 X 2. Sendo assim, não é possível calcular os valores de sensibilidade e especificidade para o novo teste. O



único artigo³⁰ que aplica o exoma em indivíduos com resultado alterado no teste padrão não descreve a aplicação do teste para o grupo que teve o resultado normal.

Outra questão metodológica difícil de ser harmonizada é a variedade de sequenciadores e plataformas usadas em cada estudo; a resolução e a cobertura do sequenciamento também podem ser fontes de variação inerentes à execução do teste e nem sempre são devidamente descritas nos artigos. Os algoritmos analíticos igualmente diferem entre si e potencialmente são capazes de modificar o resultado final do teste.

Todos os artigos analisados têm um número amostral relativamente pequeno. O estudo com maior número de pacientes foi conduzido por LigT e colaboradores (n=100) e selecionou apenas indivíduos com deficiência intelectual grave. Este estudo foi o que proporcionalmente diagnosticou o menor número de casos (16%). A seleção de pacientes com deficiência intelectual grave pode gerar um viés de espectro em potencial, uma vez que quanto mais grave o grau da deficiência intelectual, em teoria, maior é a chance de se achar um determinante genético para esses casos – o que poderia favorecer a tecnologia em estudo. Entretanto, este foi o estudo com a menor taxa diagnóstica.

Em relação aos estudos selecionados após atualização da busca, em 2018, apesar de ainda tratarmos de desfecho substituto (rendimento diagnóstico) e não de desfecho final, é inegável a melhoria metodológica da qualidade dos estudos, agora dispomos de estudos prospectivos, com amostragem consecutiva e com critérios de inclusão e exclusão mais bem delimitados, o que não era comum nos artigos publicados anteriormente.

DISCUSSÃO

Nenhum estudo demonstrou uma comparação direta entre os dois testes diagnósticos, ou seja, a partir dos estudos analisados não foi possível comparar integralmente o teste referência (“chromosomal microarray”) – já incorporado pelo SUS com o novo teste diagnóstico (exoma). Este fato pode ser parcialmente explicado por uma questão temporal: quando o exoma surgiu para uso diagnóstico, o “chromosomal microarray” já vinha sendo



amplamente empregado, de maneira que partiram para investigação com exoma apenas os pacientes que ainda não tinham elucidação diagnóstica com a hibridização genômica em arrays.

Entretanto, mesmo que houvesse o estudo metodologicamente ideal, desenhado para avaliar acurácia diagnóstica, é importante salientar que diante da ausência de um padrão ouro é despropositado calcular a acurácia diagnóstica, visto que os resultados tidos como falso-positivo podem ser verdadeiros-positivos que não foram detectados pela técnica tida como padrão. Apesar dessa limitação de não ser possível estimar a magnitude do efeito comparativamente, através da valoração da acurácia, vale salientar que todos os estudos são favoráveis ao uso diagnóstico do exoma para deficiência intelectual, considerando o rendimento diagnóstico do exoma (definido pelo número de casos diagnosticados pelo sequenciamento do exoma dividido pelo total de pacientes submetidos ao teste), mas cabe ressaltar que a maioria desses trabalhos utilizam o exoma diante de um resultado de ensaio por microarranjos normal, salvo pelo trabalho de De Ligt³⁰ que sugere o uso do exoma como teste de primeira linha para investigação de deficiência intelectual.

Uma importante característica favorável ao exoma é que o dado bruto gerado (a sequência propriamente dita), isto é, o resultado do exame, pode ser revisitado, reanalisado e reinterpretado à medida que o conhecimento médico evolui. Neste teste não há um desfecho dicotômico (“positivo ou negativo”), mas sim uma lista de variantes, que podem não elucidar o diagnóstico no primeiro momento, mas posteriormente variantes de significado incerto podem assumir um valor patológico ou benigno.

Outro ponto que merece destaque e que certamente incrementa o uso diagnóstico do exoma na investigação etiológica da deficiência intelectual, é que este teste tem propiciado uma ruptura do paradigma da etiologia da deficiência intelectual, uma vez que cada vez mais variantes causais genéticas, do tipo alterações de sequência, têm sido implicadas como patogênicas para o desenvolvimento do déficit intelectual, diferentemente do que se acreditava anteriormente, que as variações genéticas estruturais e as alterações de número de cópias (CNV – copy number variation) teriam maior contribuição na causa da deficiência intelectual³⁶⁻³⁹.

Além do que, o resultado do exoma é potencialmente dinâmico e a acurácia diagnóstica, assim como o rendimento diagnóstico, pode aumentar na medida em que o



conhecimento da genética médica se consolida, além do que, graças à possibilidade da reinterpretação do exame, evita-se uma nova coleta e o custo da realização de um novo procedimento.

Adicionalmente, deve-se considerar as questões éticas inerentes à medicina genômica e sua aplicabilidade em diferentes cenários clínicos. Conforme dito anteriormente, o exoma é apenas uma ferramenta diagnóstica e sua utilidade não está restrita aos casos de deficiência intelectual, mas pode ser de grande valia na elucidação de qualquer condição de etiologia genética (não cromossômica), inclusive para uma doença que ainda não se expressou clinicamente, mas para a qual existe a determinação genética no indivíduo.

Esses achados, que não necessariamente estão relacionados com o diagnóstico principal (motivo pelo qual o exame foi feito) mas que podem constar no resultado do exame, chamamos de achados incidentais ou secundários⁴⁰. Os achados incidentais dos testes genéticos são fontes de polêmica, pois alguns diagnósticos genéticos são passíveis de uma intervenção médica terapêutica. No entanto, muitos desses achados secundários não o são, e podem representar um transtorno ao paciente e a seus familiares o simples fato de ter aquela informação precocemente, sem que nada possa ser feito para evitar o curso da doença⁴⁰⁻⁴². Sendo assim, a forma de transmitir os achados incidentais dos testes genéticos para os pacientes e seus familiares ainda está em ampla discussão na comunidade científica⁴¹⁻⁴⁴.

Ainda é válido salientar a complementariedade entre o sequenciamento do exoma e a hibridização genômica em arrays, assim como a maioria das novas tecnologias que surgem no âmbito da saúde, o exoma já está sendo aplicado de forma complementar e não substituta à hibridização genômica em arrays. O exoma, como técnica de sequenciamento, diagnostica sobretudo variantes genéticas qualitativas (sequenciais), enquanto a hibridização genômica em arrays detecta variantes genéticas quantitativas (variações do número de cópias ou variantes estruturais cromossômicas). Sendo assim, ressaltamos aqui que não se trata de desqualificar um teste diagnóstico em detrimento de outro, mas sim de usá-los de forma racional e complementar.

Por fim, vale mencionar os benefícios intangíveis do estabelecimento do



diagnóstico etiológico das condições determinadas geneticamente, tanto no tocante ao aconselhamento genético do próprio paciente, como de seus familiares (sendo difícil mensurar qual o real valor desta informação para cada indivíduo e mesmo a quantidade de pessoas que podem se beneficiar do mesmo diagnóstico etiológico), quanto na diminuição da ansiedade da família em lidar com um quadro clínico de causa desconhecida e em minimizar a inesgotável odisseia diagnóstica que muitos pacientes com doenças genéticas enfrentam.

4.2 Estudo econômico – análise de custo-efetividade

Foi realizada análise de custo-efetividade comparando-se três **estratégias para investigação diagnóstica da etiologia** de deficiência intelectual inespecífica, a saber: **1.** A utilização de microarray como primeiro teste diagnóstico seguido do teste exoma para aqueles que permanecem sem diagnóstico após o primeiro teste (**braço intervenção**); **2.** A utilização do exoma como primeiro teste diagnóstico seguido do microarray para aqueles que continuem sem diagnóstico (**braço intervenção**) e **3.** A utilização somente de microarray como teste diagnóstico (estratégia disponível atualmente no SUS – **braço comparador**). A perspectiva foi do Sistema Único de Saúde, com horizonte temporal de um ano que é o tempo suficiente para que se realizem os exames e sejam emitidos e avaliados os diagnósticos. Os indivíduos que permanecem sem diagnóstico ao final de cada estratégia são referenciados a um especialista (03.01.01.007-2 - CONSULTA MEDICA EM ATENÇÃO ESPECIALIZADA, valor da APAC R\$ 10,00) e aqueles que obtêm um diagnóstico são referenciados para aconselhamento genético (03.01.01.022-6 - ACONSELHAMENTO GENÉTICO, valor da APAC R\$ 100,00).

Foi desenvolvido um modelo do tipo árvore de decisão (**Figura 2**) no software TreeAge Pro 2018[®]. O desfecho avaliado foi rendimento diagnóstico que é a razão entre o número de diagnósticos elucidados e o número total de indivíduos submetidos ao teste diagnóstico. As premissas utilizadas no modelo foram: um rendimento diagnóstico para o teste exoma de 38%, como descrito nesse parecer técnico científico para a revisão de 2018 e um rendimento diagnóstico para o microarray de 10%, tendo como referência o estudo de Sagoo (2009).

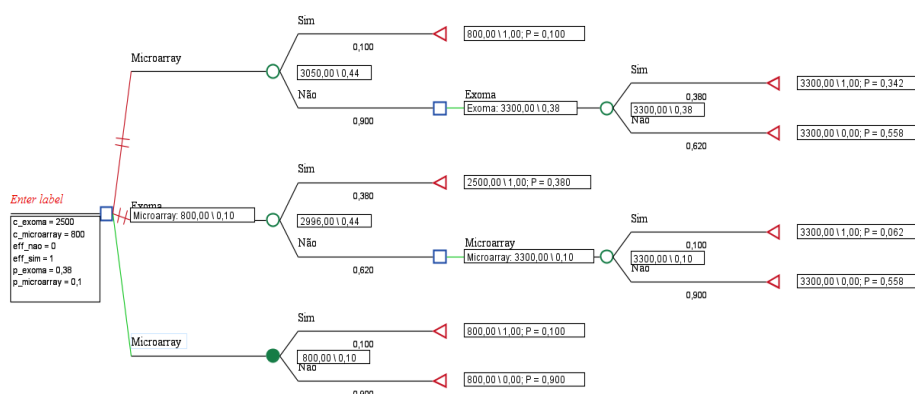


Figura 2 – Modelo de árvore de decisão utilizado no estudo de custo-efetividade. Os dois braços superiores representam as estratégias para investigação de diagnóstico etiológico com a incorporação do teste exoma (braços intervenção) e o braço inferior representa a estratégia disponível atualmente no SUS (braço comparador).

Utilizou-se também como premissa que todos os indivíduos que entram na árvore de decisão percorrem anteriormente a mesma trajetória clínica sendo considerados elegíveis para serem avaliados por teste diagnóstico para elucidação de deficiência intelectual de causa indeterminada, de acordo com o algoritmo diagnóstico proposto no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Diagnóstico Etológico da Deficiência Intelectual (**Figura 3**). De acordo com o Protocolo o teste microarray está indicado como exame de primeira linha para iniciar a investigação diagnóstica de pacientes com déficit intelectual ou atraso neuropsicomotor sem fenótipo reconhecível, juntamente (em paralelo) com o sequenciamento do exoma, ficando a critério clínico a decisão de fazer primeiramente um ou outro. Essas diretrizes estão simuladas nas estratégias 1 e 3, sendo que na estratégia 2 simula-se que o teste exoma seria oferecido em primeira linha.

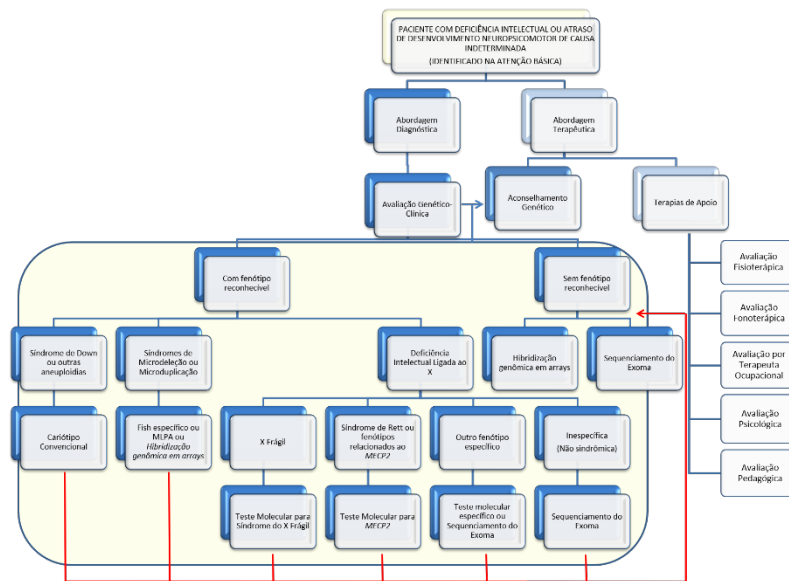


Figura 3 – Algoritmo para diagnóstico etiológico da deficiência intelectual inespecífica. Quadro vermelho destaca a utilização do microarray como primeira opção, juntamente com o exoma.

Os custos computados nas análises foram de R\$ 2.500,00 para a realização do exoma e de R\$ 800,00 para a realização do teste microarray, referente ao valor do procedimento 03.01.01.020-0 - AVALIAÇÃO CLÍNICA PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS RARAS - EIXO I: 2- DEFICIENCIA INTELLECTUAL, que consiste na avaliação clínica por médico especialista e investigação laboratorial referente ao eixo de doenças raras genética que cursam com deficiência intelectual. Assumiu-se que os valores dos testes cobririam todas as etapas necessárias para a elucidação do diagnóstico, como a necessidade de testes confirmatórios, por exemplo. Uma vez que esse procedimento admite APAC de continuidade, os valores dos testes foram submetidos a posterior análise de sensibilidade.

De acordo com o modelo proposto, nenhuma estratégia foi dominante. A estratégia atualmente disponibilizada pelo SUS (**somente microarray**) é a que requer um maior custo por diagnóstico positivo (R\$ 8.000,00 por diagnóstico positivo), sendo que para as outras estratégias os custos por diagnóstico positivo são de R\$ 6.778,28 (exoma como primeira linha e microarray em segunda linha) e de R\$ 6.900,45 (microarray seguido de exoma). As efetividades e os custos das estratégias estão apresentados na **Tabela 3**.



Tabela 3 – Efetividades e custos das estratégias.

Estratégias	Custo total	Custo incremental em relação à estratégia 3 (R\$ por diagnóstico positivo)	Efetividade	Efetividade incremental em relação à estratégia 3	Custo-efetividade incremental (R\$ por um diagnóstico positivo a mais)	Custo-efetividade (R\$ por um diagnóstico positivo)
1. Microarray depois exoma	3.050	2.250	0,442	0,342	6.578,94	6.900,45
2. Exoma depois microarray	2.996	2.196	0,442	0,342	6.421,05	6.778,28
3. Microarray somente	800	-	0,1	-	-	8.000,00

As duas estratégias em análise nos braços intervenção são mais eficazes, mas mais caras que a estratégia utilizada atualmente no SUS. As relações de custo efetividade incrementais são de R\$ 6.421,05/diagnóstico positivo quando se comparam as estratégias 2 e 3 (oferecer exoma seguido de microarray versus somente microarray) e de R\$ 6.578,94/diagnóstico positivo quando se comparam as estratégias 1 e 3 (oferecer microarray seguido de exoma versus somente microarray).

A principal limitação do modelo é o desfecho utilizado que é o rendimento diagnóstico ao invés da acurácia diagnóstica, que é o desfecho mais empregado quando se comparam dois testes diagnósticos. A utilização do rendimento diagnóstico advém da inexistência de estudos nos quais se avalie acurácia diagnóstica, havendo somente estudos de caso-controle considerados de baixa qualidade metodológica.

Conduziu-se também análise de sensibilidade determinística variando os seguintes parâmetros utilizados no modelo: rendimento diagnóstico do teste exoma, rendimento diagnóstico do teste microarray, custos dos dois testes. O rendimento diagnóstico do teste exoma, como demonstrado nesse parecer, aumentou de 20% para 38% entre as revisões da literatura conduzidas em 2015 e depois em 2018 e por isso acredita-se que esse rendimento pode ainda aumentar mais no futuro (a projeção foi de 38% a 50%). Hoje há novos testes com a tecnologia do microarray, com alta performance, e por isso variou-se também o rendimento diagnóstico desse teste (a projeção foi de 10% a 20%). Os custos dos testes também estão sujeitos a variações, e as faixas de R\$ 800,00 a R\$ 5.000,00 e de R\$ 800,00 a R\$ 2.400,00 foram utilizadas como custos possíveis para o exoma e microarray, respectivamente.



Observou-se que a variável que mais impacta os resultados do modelo é o valor do exoma quando se comparam ambos os braços intervenção (estratégias 1 e 2) com o braço comparador (Figuras 4 e 5).

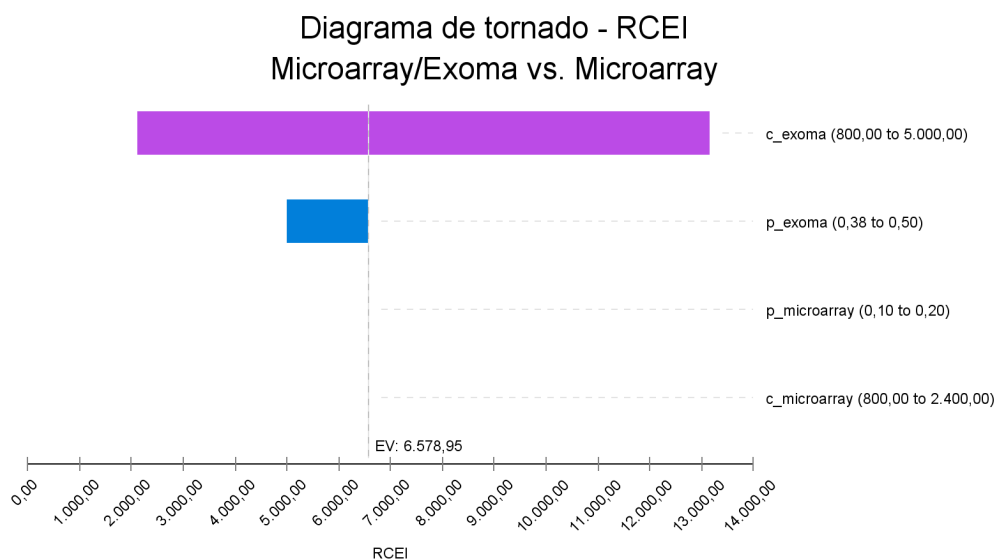


Figura 4 - Análise de sensibilidade determinística da análise de custo-efetividade entre as estratégias de diagnóstico 1 e 3. O custo do exoma tem um grande impacto na razão de custo-efetividade incremental.

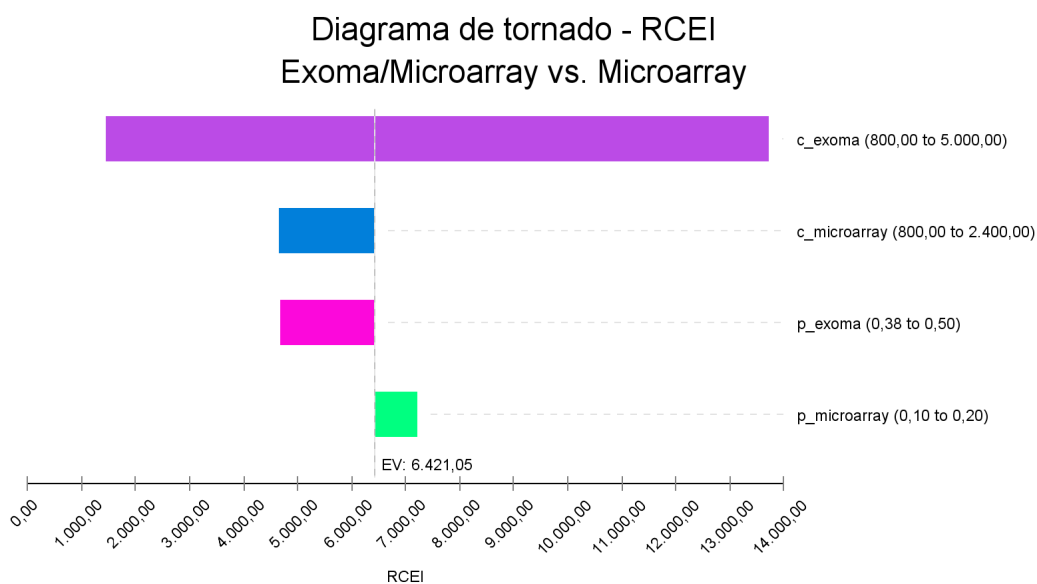


Figura 5 – Análise de sensibilidade determinística da análise de custo-efetividade entre as estratégias de diagnóstico 2 e 3. O custo do exoma tem um grande impacto na razão de custo-efetividade incremental.



Em nenhuma simulação avaliada as estratégias em análise são dominantes, mesmo com a redução do custo do teste exoma até R\$800,00, que é valor da APAC referente ao procedimento de investigação diagnóstica em deficiência intelectual inespecífica. Quando se comparam as estratégias 1 e 3, ou a realização de microarray depois exoma versus a realização somente de microarray a razão de custo-efetividade incremental varia entre R\$ 2.105,26 até R\$ 13.157,90 por diagnóstico positivo a mais, quando o custo do teste é variado entre R\$ 800,00 e R\$ 5.000,00 (**Figura 4**). Os outros parâmetros pouco afetam a razão de custo-efetividade, mas um aumento na efetividade do teste exoma causa pequena redução de R\$ 6.578,94 para R\$ 5.000,00 por diagnóstico positivo a mais.

Quando se comparam as estratégias 2 e 3, ou a realização de exoma depois microarray versus a realização somente de microarray a razão de custo-efetividade incremental varia entre R\$ 1.450,29 até R\$ 13.731,00 por diagnóstico positivo a mais, quando o custo do teste é variado entre R\$ 800,00 e R\$ 5.000,00 (**Figura 5**). Os outros parâmetros pouco afetam a razão de custo-efetividade, mas uma diminuição no custo do microarray e um aumento na efetividade do teste exoma causam reduções de R\$ 6.421,05 para R\$ 4.643,27 e R\$ 4.666,67 por diagnóstico positivo a mais, respectivamente.

4.3 Análise de Impacto Orçamentário

A prevalência de deficiência intelectual no Brasil está estimada em 1% da população, sendo que parte desse quantitativo não consegue um diagnóstico da etiologia da doença. Se consideramos que a população brasileira em 2018 é de 208,7 milhões de habitantes, segundo o IBGE, obteríamos uma estimativa de indivíduos elegíveis para se submeterem a testes diagnósticos para investigação da etiologia de deficiência intelectual não específica entre 1 e 2 milhões. Entretanto, a utilização de informações epidemiológicas para se projetar o impacto orçamentário de uma possível incorporação do teste exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual inespecífica, geraria dados superestimados uma vez que a capacidade do Sistema Único de Saúde para realizar esses exames é atualmente o fator determinante e limitante do quantitativo de exames que podem ser realizados para essa finalidade. Dessa forma, para o cálculo da população elegível partiu-se do registro da produção em doenças raras



no SUS para os anos de 2016, 2017 e 2018. Mais especificamente do registro do número de indivíduos submetidos ao teste de microarray (registro pelo procedimento - 02.02.10.010-3 - IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÃO CROMOSSÔNICA SUBMICROSCÓPICA POR ARRAY-CGH) para investigação etiológica de deficiência intelectual. Partindo-se do número de indivíduos que realizaram o procedimento de microarray e permaneceram sem um diagnóstico conclusivo obtém-se o quantitativo de elegíveis para se submeterem ao teste exoma. De acordo com a revisão da literatura apresentada nesse parecer, a porcentagem de resolução do diagnóstico etiológico por microarray é de 10% e dessa forma, 90% desses indivíduos seriam elegíveis para se submeterem ao teste de exoma.

A projeção de impacto orçamentário foi conduzida na perspectiva do SUS e para os próximos cinco anos. Considerou-se também que a capacidade de um centro brasileiro público hoje seria a de realização de 192 exames exoma por mês (96 a cada quinze dias) e que atualmente há 8 centros credenciados para o atendimento em doenças raras no país, totalizando uma capacidade instalada de 1.536 exames mês caso os equipamentos funcionassem em período integral por 7 dias na semana.

O quantitativo de indivíduos que se submeteram ao teste de microarray foi de 25 em 2017 e 19 no primeiro semestre de 2018, não havendo registros para 2016. Partindo do pressuposto que no segundo semestre de 2018 a produção será a mesma do primeiro semestre, obtém-se um quantitativo de 39 testes realizados nesse ano. Há então entre 2017 e 2018 um aumento de 56% no número de indivíduos que foram submetidos ao exame de microarray para investigação da etiologia de deficiência intelectual inespecífica.

Partindo-se do pressuposto que o sistema manteria esses incrementos anuais na produção para os cinco anos subsequentes obtém-se os quantitativos de 53, 67, 81, 95 e 109 testes de microarray que seriam realizados nos anos de 2019 a 2023, respectivamente. Aplicando-se ainda uma taxa de resolutividade diagnóstica de 10% obtém-se a população elegível para se submeter ao teste exoma nos próximos cinco anos.



Tabela 4 – Indivíduos elegíveis para se submeterem ao teste exoma

Ano	Número de indivíduos submetidos ao teste de microarray	Número de elegíveis para se submeterem ao exoma
2019	53	48
2020	67	60
2021	81	73
2022	95	85
2023	109	98

Considerando o valor sugerido para o exoma de R\$ 2.500,00 por pessoa, já incluindo os testes necessários para a confirmação de diagnóstico, obtém-se a projeção de impacto orçamentário para a incorporação do teste exoma ao SUS para os próximos cinco anos (**Tabela 5**).

Tabela 4 – Impacto orçamentário por ano para o período de 2019 a 2023

Ano	Número de elegíveis para se submeterem ao exoma	Impacto orçamentário por ano (R\$)
2019	48	120.000
2020	60	150.000
2021	73	182.000
2022	85	212.000
2023	98	245.000
Total	364	909.000

Dessa forma, para que se oferte o teste exoma para indivíduos sem diagnóstico resolutivo após a realização do teste microarray, presumindo-se um aumento na produção desse exame de 56% ao ano e excluindo-se os custos com a compra dos equipamentos, infraestrutura e treinamento de pessoal, deve-se fazer um aporte de R\$ 120.000,00 no primeiro ano e de R\$ 909.000,00 em cinco anos. O investimento para que se operasse em capacidade máxima de produção no setor público pressupondo que os oito centros credenciados em doenças raras no país atualmente oferecessem os exames seria cerca de 40 milhões de reais.



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

RECOMENDAÇÃO - Diante da complexidade da investigação etiológica da deficiência intelectual inespecífica, do efeito deletério da ausência do diagnóstico para familiares e cuidadores, da possibilidade de oferecer aconselhamento genético para o paciente e seus familiares interessados após o estabelecimento do diagnóstico (considerada uma externalidade positiva intangível) e ainda considerando as evidências disponíveis no momento, além do potencial impacto do estabelecimento diagnóstico na redução de procedimentos desnecessários e dos custos relacionados a tais intervenções; levando ainda em conta que os diagnósticos realizados por esta técnica (sobretudo alterações de sequência) não são detectados por outro método até o momento incorporado, isto é, deixar de realizar tal exame é sabidamente negligenciar o diagnóstico etiológico da deficiência intelectual, recomenda-se fortemente a incorporação no SUS do sequenciamento completo do exoma como método diagnóstico para deficiência intelectual inespecífica.

Vale reiterar e esclarecer que a força de recomendação é forte e discordante da qualidade baixa da evidência em função de outras questões não avaliadas pelo desfecho rendimento diagnóstico. Há vários desfechos intangíveis que merecem particular consideração, como os referentes ao aconselhamento genético e à redução da ansiedade após o estabelecimento do diagnóstico; adicionalmente não foi aqui avaliada a redução de custos referentes aos exames complementares de diagnóstico realizados na busca por um diagnóstico presuntivo, enquanto o diagnóstico etiológico não é estabelecido. Ademais, conforme colocado acima, não há outro teste diagnóstico, devidamente incorporado pelo SUS, que tenha o mesmo escopo que o sequenciamento do exoma, sendo assim, não há um exame substituto, e deixar de realizá-lo, sabendo de sua indicação clínica, significa encerrar precocemente a investigação diagnóstica quando ainda é possível lançar mão de mais uma potente ferramenta diagnóstica. Outro aspecto que é digno de destaque é a ampla aplicabilidade do exoma, que extrapola o cenário da deficiência intelectual, e é pertinente a todas as condições presumidamente de causa genética, nas quais o teste está indicado como ferramenta diagnóstica.

Como perspectiva, há inegavelmente questões a serem melhor estudadas, como



em que momento da investigação diagnóstica este teste deve ser aplicado, após ou em paralelo à hibridização genômica em arrays, como exame de primeira linha - (vide estudo econômico). Ou com que periodicidade se recomendam as reanálises nos casos sem diagnóstico, além da discussão sobre os achados adicionais ou incidentais (não relacionado ao diagnóstico principal), no entanto, tais questionamento não devem servir de escusa para postergar ainda mais um procedimento que, a despeito de não ter sido formalmente incorporado pelos sistemas de saúde, já encontra-se em fase de ampla utilização na prática clínica e vem sobretudo agregar na investigação do diagnóstico etiológico das condições determinadas geneticamente.

6. RECOMENDAÇÃO INICIAL DA CONITEC

Os membros da Comissão presentes na 70ª reunião realizada em 30 de agosto de 2018 deliberaram por unanimidade e de forma preliminar pela não incorporação do teste de sequenciamento do exoma para investigação diagnóstica da etiologia de deficiência intelectual de causa indeterminada. A Comissão entendeu que o exame não altera o curso da doença, é atualmente avaliado na literatura médica por meio de desfecho intermediário como o rendimento diagnóstico, faltando subsídios para avaliar o impacto da incorporação desse exame em desfechos importantes relacionados à doença. A matéria será encaminhada à consulta pública com recomendação inicial de não incorporação da tecnologia ao SUS.



7. CONSULTA PÚBLICA

A Consulta Pública nº 48/2018 foi realizada entre os dias 11/10/2018 e 30/10/2018. Foram recebidas 92 contribuições, sendo 9 pelo formulário para contribuições técnico-científicas e 83 pelo formulário para contribuições sobre experiência ou opinião de pacientes, familiares, amigos ou cuidadores de pacientes, profissionais de saúde ou pessoas interessadas no tema. Foram consideradas apenas as contribuições encaminhadas no período estipulado e por meio do site da CONITEC, em formulário próprio.

O formulário de contribuições técnico-científicas é composto por duas partes, a primeira sobre as características do participante, e a segunda, sobre a contribuição propriamente dita, acerca do relatório em consulta, estruturada com cinco perguntas sobre: (1) a recomendação preliminar da CONITEC, (2) as evidências clínicas, (3) a avaliação econômica, (4) o impacto orçamentário, e (5) outras contribuições além das citadas.

O formulário de experiência ou opinião é composto por duas partes, a primeira sobre as características do participante, e a segunda, sobre a contribuição propriamente dita, acerca do relatório em consulta, que esta estruturada em três blocos de perguntas com o objetivo de conhecer a opinião do participante sobre: (1) a recomendação preliminar da CONITEC, (2) a experiência prévia com o medicamento em análise e (3) a experiência prévia com outros medicamentos para tratar a doença em questão.

As características dos participantes foram quantificadas e estratificadas de acordo com os respectivos formulários. As contribuições foram quantitativamente e qualitativamente avaliadas, considerando as seguintes etapas: a) leitura de todas as contribuições, b) identificação e categorização das ideias centrais, e c) discussão acerca das contribuições. A seguir, é apresentado um resumo da análise das contribuições recebidas. O conteúdo integral das contribuições se encontra disponível na página da CONITEC (<http://conitec.gov.br/index.php/consultas-publicas>).

CONTRIBUIÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

Dentre as 9 contribuições técnico-científicas, todas partiram de pessoa física, sendo 8 de profissionais de saúde e 1 de indivíduo interessado no tema.



Perfil dos participantes

Participaram em sua maioria mulheres (56%), brancas (78%), na faixa etária entre 25 e 59 anos (77%) e provenientes das regiões sul e sudeste (77%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Características demográficas de todos os participantes da consulta pública n° 48/2018 por meio do formulário técnico científico.

Característica	Número absoluto (%)	População do Brasil (%)
Sexo		
Feminino	5 (56%)	51%
Masculino	4 (44%)	49%
Cor ou Etnia		
Amarelo	-	1,1%
Branco	7 (78%)	47,5%
Indígena	-	0,42%
Pardo	2 (22%)	43,2%
Preto	-	7,52%
Faixa etária		
Menor de 18 anos	-	29%
18 a 24 anos	-	8%
25 a 39 anos	4 (44%)	24%
40 a 59 anos	3 (33%)	25%
60 anos ou mais	2 (23%)	14%
Regiões brasileiras		
Norte	-	8,7%
Nordeste	2 (23%)	27,1%
Sul	3 (33%)	14,2%
Sudeste	4 (44%)	42%
Centro-Oeste	-	7,7%

Avaliação geral da recomendação preliminar da CONITEC

As 9 contribuições discordaram da recomendação inicial, sendo que 8 discordaram totalmente e 1 discordou parcialmente da recomendação de não incorporar o uso diagnóstico do exoma para deficiência intelectual de causa indeterminada. Tais contribuições agregaram



não somente novos argumentos favoráveis à tecnologia em avaliação como também novos trabalhos publicados na literatura que defendem o emprego do exoma como teste diagnóstico para deficiência intelectual e outras doenças determinadas geneticamente. Uma das contribuições inclusive rebate a justificativa utilizada neste relatório de que o exame não deve ser incorporado visto que o mesmo não altera o curso da doença: a respeito deste tópico, o profissional de saúde autor da contribuição esclarece que “não há nenhuma entidade clínica, à luz do conhecimento atual, que após lesar a área cognitiva – intelectual, tenha algum tratamento medicamentoso ou não, que possa mudar o curso dessa doença mental, seja ela leve, moderada ou grave.” Sendo assim, o autor argumenta que nem o exoma, nem nenhum outro exame realizado em pessoas com déficit intelectual tem o intuito de modificar o curso natural da doença. O autor coloca ainda que esse tipo de teste genético tem dois objetivos claros: o aconselhamento genético e a orientação dos familiares. Esta mesma contribuição cita ainda a Portaria MS/GM nº 199 datada de janeiro de 2014, que instituiu a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do SUS e ressalta que nesta portaria foi previsto o diagnóstico da deficiência intelectual de origem genética, seja ela leve, moderada ou grave. De fato, esta Portaria contempla a investigação diagnóstica de indivíduos com déficit intelectual de causa indeterminada e incorpora outros testes genéticos que assim como o exoma não são capazes de mudar a história natural da deficiência intelectual, mas permitem o estabelecimento do diagnóstico etiológico e propiciam o aconselhamento genético adequado do caso.

Esta mesma contribuição ressalta que “Doenças como déficit intelectual levam o usuário a viver uma peregrinação por vários Serviços de Saúde, essa sim, custa muito caro para o SUS. Em cada um desses aparelhos de Saúde são realizados diferentes e inúmeros exames complexos e de alto custo, muitas vezes repetidos, sem conclusões favoráveis aos doentes, em vários momentos de suas vidas.”

Um outro profissional de saúde acrescenta que “O uso do exoma é uma ferramenta com alto rendimento diagnóstico na deficiência intelectual. As investigações atualmente disponíveis no âmbito do SUS não permitem a exclusão de toda as causas tratáveis conhecidas de deficiência intelectual, o que traz angústia às famílias de pessoas sem diagnóstico.” O autor complementa que o diagnóstico “traz outros benefícios como a clarificação etiológica, provisão do prognóstico ou curso clínico esperado, discussão de mecanismos genéticos e riscos de recorrência, redução do número de testes diagnósticos redundantes e desnecessários, manejo de sintomas ou rastreamento de complicações conhecidas, provisão de suporte familiar específico para a condição e acesso a protocolos de tratamento por pesquisa.”

Uma outra contribuição digna de nota pondera que “O exoma, quando indicado precisamente, tem impacto sim, quando avaliado o aspecto econômico, ao encerrar o custoso e demorado processo de investigação diagnóstica que se prolongaria em caso de não realização do diagnóstico”. O autor ressalta ainda “o impacto psicossocial ao indivíduo e familiares, ao permitir adequado aconselhamento genético, e conseqüentemente prevenção de recorrência de quadros semelhantes na mesma família”. O profissional de saúde acrescenta que o



sequenciamento do exoma parece trazer consigo um efeito intrínseco descrito por Vrijenhoek e colaboradores em 2018 (*Whole-exome sequencing in intellectual disability cost before and after a diagnosis. European Journal of Human Genetics. 26,1566-1571*) e denominado como “fim de trajetória”, independentemente do estabelecimento do diagnóstico, o trabalho esclarece que as intervenções médicas *a posteriori* do procedimento diminuem substancialmente tanto numericamente quando em termos de custos.

Um outro depoimento de profissional de saúde que registrou discordância total da recomendação preliminar, usa trechos do próprio relatório da CONITEC para justificar seu posicionamento: “Esclarecer o diagnóstico para esses indivíduos representa diminuição da ansiedade para os familiares e cuidadores, além da possibilidade do estabelecimento de conduta antecipatória, informações a respeito de prognóstico e a oferta de aconselhamento genético para o próprio paciente e para os familiares.” O profissional acrescenta que desta maneira o aconselhamento genético só ocorre plenamente com a definição etiológica, posto que o aconselhamento genético inclui a etiologia, a definição do risco de recorrência, indicações terapêuticas gerais e específicas e opções reprodutivas.

Um outro profissional de saúde acrescenta que existem diferenças na utilização do “microarray” (comparador) e do exoma para investigação da etiologia da deficiência intelectual, no entanto, atenta para a possibilidade do exoma poder avaliar desequilíbrios genômicos, desde que realizado e interpretado por profissional treinado.

Mais uma contribuição discordante da recomendação inicial de não incorporar o exoma justifica que há inúmeras famílias com deficiência intelectual familiar sem diagnóstico, impossibilitando o aconselhamento genético e não avançando para perspectiva de tratamento específico.

Enfim, todas as contribuições técnicas são contrárias à recomendação preliminar e usam como argumentação o fato da deficiência intelectual não ter tratamento, sendo assim, o diagnóstico não vem atrelado de mudança na história natural da doença e portanto não se traduz em desfechos finais para os pacientes, ainda assim, o estabelecimento do diagnóstico etiológico é considerado válido por todas as contribuições, tanto para fins de aconselhamento genético, quanto para redução de ansiedade dos familiares e cuidadores envolvidos com os pacientes, além do que foi considerado ainda uma possível redução dos custos após o esclarecimento do diagnóstico, pois sem o mesmo, a busca por um resposta continua por parte dos familiares, o que acaba por onerar o sistema de saúde.



FORMULÁRIO DE EXPERIÊNCIA OU OPINIÃO

Foram registradas 83 contribuições no formulário de experiência ou opinião, das quais 2 foram excluídas por estarem duplicadas. Contribuíram para a consulta pública 55 familiares, amigos ou cuidadores, 8 profissionais de saúde, 15 interessados no tema, 1 paciente, 1 instituição e 1 declarado como grupo/associação.

Perfil dos participantes

As contribuições recebidas por meio desse formulário partiram principalmente de pessoas físicas entre pacientes, familiares, amigos ou cuidadores de pacientes, de profissionais de saúde e interessados no tema, em sua maioria mulheres (83%), brancas (73%), na faixa etária entre 25 e 59 anos (93%) e provenientes das regiões sul e sudeste (61%). Foram recebidas também duas contribuições de pessoas jurídicas entre uma de instituição de saúde e outra de grupo/associação/organização de pacientes (**Tabelas 6 e 7**).

Tabela 6 – Contribuições de experiência ou opinião da consulta pública nº 48/2018 de acordo com a origem.

Característica	Número absoluto (%)
Pessoa física	
Paciente	1 (1%)
Familiar, amigo ou cuidador de paciente	56 (67%)
Profissional de saúde	8 (10%)
Interessado no tema	15 (18%)
Pessoa jurídica	
Instituição de Saúde	1 (1%)
Grupo/associação/organização de pacientes	2 (3%)



Tabela 7 - Características demográficas de todos os participantes da consulta pública nº 48/2018 por meio do formulário de experiência ou opinião.

Característica	Número absoluto (%)	População do Brasil (%)
Sexo		
Feminino	66 (83%)	51%
Masculino	14 (17%)	49%
Cor ou Etnia		
Amarelo	3 (4%)	1,1%
Branco	58 (73%)	47,5%
Indígena	1 (1%)	0,42%
Pardo	18 (22%)	43,2%
Preto	-	7,52%
Faixa etária		
Menor de 18 anos	1 (1%)	29%
18 a 24 anos	2 (3%)	8%
25 a 39 anos	40 (50%)	24%
40 a 59 anos	35 (43%)	25%
60 anos ou mais	2 (3%)	14%
Regiões brasileiras		
Norte	3 (4%)	8,7%
Nordeste	26 (31%)	27,1%
Sul	10 (12%)	14,2%
Sudeste	41 (49%)	42%
Centro-Oeste	3 (4%)	7,7%



Avaliação geral da recomendação preliminar da CONITEC

Dentre as 81 contribuições analisadas, 72 delas discordam totalmente da recomendação inicial de não incorporar o exoma; 1 discordou parcialmente e 8 concordam totalmente. Os que concordaram totalmente não comentaram a decisão. Dentre os que registraram discordância da recomendação de não incorporar o exoma, o principal argumento alegado é o direito ao diagnóstico, vale citar um familiar que escreveu “Todos têm direito a um diagnóstico, tenho dois filhos especiais sem diagnósticos”. Um profissional de saúde registrou que tem obtido muitos resultados de exoma relacionados ao diagnóstico de deficiência intelectual. Um representante de grupos ou associação pontuou que “Fazer este exame para esses pacientes e suas famílias não é somente uma tentativa de encontrar uma cura, mas também uma esperança de encontrar solução para uma busca incansável de perguntas...”.

Uma das contribuições de um profissional de saúde atentou para o fato de que o exoma é “imprescindível no diagnóstico de alguns distúrbios intelectuais”. Um familiar que discorda da recomendação inicial de não incorporar o exoma alega que o exame é necessário para muitos e não é realizado por falta de condições financeiras. Um dos cuidadores que novamente discorda da recomendação preliminar esclarece que através do exoma foram identificadas variantes genéticas importantes para o diagnóstico e para direcionar o tratamento. A única contribuição de um indivíduo declarado como paciente acrescenta que a incorporação do exoma ajudaria muitos casos de pais com filhos com doenças graves e indeterminadas por exames comuns.

Em resumo, a maioria das opiniões favoráveis à incorporação do exoma como teste diagnóstico traz como justificativa a possibilidade de chegar ao diagnóstico diante de quadros clínicos inespecíficos, a aflição por não ter um esclarecimento diagnóstico e a dificuldade em custear o exame por meios próprios.

Das contribuições avaliadas foram identificadas 14 nas quais se alega experiência com a tecnologia em avaliação como cuidador ou responsável. Dessas foi possível selecionar 6 nas quais as contribuições estavam inteligíveis ou de fato relacionadas à experiência com a tecnologia em análise. Os pontos positivos apontados nessas contribuições se relacionam à possibilidade de ter se obtido um diagnóstico definitivo por meio da utilização desse procedimento. Transcrevem-se na íntegra duas contribuições: **1.** “*Foram identificadas variantes genéticas importantes para o diagnóstico e para direcionar o tratamento*” e **2.** “*A identificação da síndrome Phelan-McDermid permitiu entender que a deficiência intelectual estava acompanhada de um quadro esquizofrênico é um quadro do espectro autista. A conduta médica adotou outra conduta melhor orientado por pesquisas relatadas na comunidade científica. Essa identificação mais precisa contribuiu para dar uma melhor atenção ao paciente e orientação familiar*”. Em relação aos pontos negativos citou-se o custo do exame como barreira ao acesso.

Parte de quem submeteu essas contribuições também alegou ter tido experiência como cuidador ou responsável com outras tecnologias diferentes do exoma para diagnóstico de deficiência intelectual. As tecnologias citadas foram: análise do DNA mitocondrial; Cgh-Array;



cariótipo e Fish. Os pontos positivos apontados foram a possibilidade de fazer diagnósticos diferenciais ou excluir determinadas possibilidades diagnósticas tais como mitocondriopatias e microdeleções.

Em seis identificaram-se experiências como profissional de saúde, sendo cinco delas consideradas para análise. Em relação aos pontos positivos destacam-se como mais frequentes a possibilidade de elucidação do diagnóstico e a partir daí orientação da prática clínica. Outros aspectos citados como efeitos positivos se referem à possibilidade de início de aconselhamento genético após a realização do exoma, com orientação sobre a possibilidade de recorrência e sobre o prognóstico. O único aspecto negativo citado se refere ao custo do procedimento.

Um profissional de saúde, que também alegou experiência com exoma, submeteu contribuições sobre experiências com outras tecnologias diagnósticas mencionando os procedimentos de microarray e SNG. Cita como pontos positivos a contribuição dessas técnicas para que se faça um aconselhamento genético apropriado e que essas podem auxiliar para a indicação de tratamento e prognóstico adequados.

AVALIAÇÃO GLOBAL DAS CONTRIBUIÇÕES

A maioria das opiniões favoráveis à incorporação do exoma como teste diagnóstico traz como justificativa a possibilidade de chegar ao diagnóstico diante de quadros clínicos inespecíficos, a aflição por não ter um esclarecimento diagnóstico e a dificuldade em custear o exame por meios próprios. Dessa forma, após a apreciação das contribuições encaminhadas pela Consulta Pública o plenário da CONITEC considerou que houve argumentação suficiente para alterar a recomendação inicial.

8. RECOMENDAÇÃO FINAL DA CONITEC

Aos 14 (quatorze) dias do mês de março de 2019, reuniu-se a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS – CONITEC, e os membros presentes deliberaram, por unanimidade, recomendar a incorporação do exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual de causa indeterminada como procedimento ambulatorial de alta complexidade não valorado na Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais Especiais do SUS, secundário ao procedimento 03.01.01.020-0 – Avaliação clínica para diagnóstico de doenças raras – Eixo I: 2 – Deficiência intelectual, com vistas ao aconselhamento genético, em conformidade com que estabelece a Portaria GM/MS nº 199/2014 (*) e mediante protocolo estabelecido Pelo Ministério da Saúde. Assinou-se o Registro de Deliberação número 431/2019.



9. DECISÃO

PORTARIA Nº 18, DE 27 DE MARÇO DE 2019

Torna pública a decisão de incorporar o sequenciamento completo do exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual de causa indeterminada 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 Incorporar o sequenciamento do exoma para investigação etiológica de deficiência intelectual da causa indeterminada como procedimento ambulatorial de alta complexidade não valorado na Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais Especiais do SUS, secundário ao procedimento 03.01.01.020-0-Avaliação clínica para diagnóstico de doenças raras-Eixo I:2-Deficiência intelectual, com vistas ao aconselhamento genético, em conformidade com o que estabelece a Portaria GM/MS nº 199/2014(*) e mediante protocolo estabelecido pelo Ministério da Saúde.

Art. 2º Conforme determina o art. 25 do Decreto 7.646/2011, o prazo máximo para efetivar a oferta ao SUS é de cento e oitenta dias.

Art. 3º 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. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

DENIZAR VIANNA ARAUJO



10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Topper S, Ober C, Das S. Exome sequencing and the genetics of intellectual disability. Clin Genet. 2011;80: 117-26.
2. Ministério da Saúde. Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras. Portaria Nº 199, de 30 de janeiro de 2014.
3. Tassé M. What's in a Name? Intellectual and developmental disabilities. Abr. 2013; v.51, n.2, p.113-6.
4. Shalock R, et al. The renaming of mental retardation: Understanding the change to the term intellectual disability. Intellectual and developmental disabilities. Abr. 2007; v.45, n.2, p.116-24.
5. Tassé M, et al. AAIDD Proposed Recommendations for *ICD-11* and the Condition Previously Known as Mental Retardation. Intellectual and developmental disabilities. Abr, 2013; v.51, n.2, p.127-31.
6. Salvador-Carulla L. Intellectual developmental disorders: towards a new name, definition and framework for “mental retardation/intellectual disability” in ICD-11.
7. Papazoglou, 2014. To ID or Not to ID? Changes in Classification Rates of Intellectual Disability Using DSM-5.
8. Greenspan, 2014. Intellectual disability as a disorder of reasoning and judgement: the gradual move away from intelligence quotient-ceilings.
9. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Censo demográfico 2010: Características gerais da população. Rio de Janeiro: IBGE, 2010 (<http://www.censo2010.ibge.gov.br>).
10. Kaufman L, Ayub M, Vincent JB. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review. J Neurodevelop Disord (2010) 2:182-209.
11. Rauch A, Hoyer J, Guth S, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. Am J Med Genet A 2006; 2063-74



12. Helsmoortel C, Vanderweyer G, Ordoukhanian P, Van Nieuwerburgh F, Van der Aa N, Kooy RF. Challenges and opportunities in the investigation of unexplained intellectual disability using family-based whole-exome sequencing. *Clin Genet* 2014.
13. Roselló M, Martínez M, Monfort S, Mayo S, Oltra S, Orellana C. Phenotype profiling of patients with intellectual disability and copy number variations. *European Journal of Paediatric Neurology* 2014.
14. Coutton C, Dietrich K, Satre V, Vieville G, Mamblard F, David M, et al. Array—CGH in children with mild intellectual disability: a population-based study. 2014. *Eur J Pediatr*.
15. Einfeld SL, Ellis LA, Emerson E. Comorbidity of intellectual disability and mental disorder in children and adolescents: a systematic review. *J Intellect Dev Disabil*. 2011; 36: 137-43.
16. Willemsen MH, Kleefstra T. Making headway with genetic diagnostics of intellectual disabilities. *Clin Genet*. 2014; 85: 101-10.
17. Moeschler JB. Comprehensive Evaluation of the Child with Intellectual Disability or Global Developmental Delays. *Pediatrics*. Set 2014; vol. 134, n. 3.
18. Miller. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. 2010.
19. Flore. Updates in the Genetic Evaluation of the Child with Global Developmental delay or Intellectual Disability. 2012.
20. Sagoo. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. 2009.
21. Rauch. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. 2012.
22. Ligt J, et al. Diagnostic Exome Sequencing in Persons with Severe Intellectual Disability. *The New England Journal of Med*. 2012
23. Carvill GL, Mefford HC. Microdeletion syndromes. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2013; 23:232-9.



24. Gilissen C, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature*. 2014; vol 511:344-7.
25. Ku CS, et al. Exome sequencing: Dual Role as a Discovery and Diagnostic Tool. *Ann Neurol*. 2012; 71:5-14.
26. Polychronakos C, Ku CS. Exome diagnostics: already a reality? *J Med Genet* 2013; 48:579.
27. Majewski J, et al., 2012. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet* 2011; 48:580-9.
28. Desai AN, Jere A. Next-generation sequencing ready for the clinics? *Clin Genet*. 2012; 81:503-10.
29. Nelen. Genome and exome sequencing in the clinic: unbiased genomic approaches with a high diagnostic yield. 2012.
30. Ligt J, et al. Detection of Clinically Relevant Copy Number Variants with Whole-Exome Sequencing. *Human Mutation*. 2013;34:1439-48.
31. Agência Nacional de Saúde Suplementar (Brasil). Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde: RN 338/2013 / Agência Nacional de Saúde Suplementar (Brasil).
32. Bick D, Dimmock D. Whole exome and whole genome sequencing. *Curr Opin Pediatr*. 2011; 23:594-600.
33. Metzker M. Sequencing technologies - the next generation. *Nature Genetics*. 2010; vol. 11:31-46.
34. Athanasakis E, et al. Next Generation Sequencing in Nonsyndromic Intellectual Disability: From a Negative Molecular Karyotype to a Possible Causative Mutation Detection. *Am J Genet Part A* 2013; 164A: 170-6.
35. Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation - GRADE. www.gradeworkinggroup.org
36. Hamdam FF, et al. Excess of De Novo Deleterious Mutations in Genes Associated with



Glutamatergic Systems in Nonsyndromic Intellectual Disability. *The American Journal of Human Genetics*. 2011;88:306-16.

37. Robinson. Whole exome sequencing for finding de novo mutations in sporadic mental retardation. 2010.

38. Vissers, et al. A *de novo* paradigm for mental retardation. *Nature Genetics* 2010; 42: 1109-112..

39. Hamdam, et al. De Novo Mutations in Moderate or Severe Intellectual Disability. *PLoS Genet*. 2014; 10(10).

40. Townsend A, et al "I want to know what's in Pandora's Box: Comparing Stakeholder Perspectives on Incidental Findings in Clinical Whole Genomic Sequencing". *Am J Med Genet. Part A* 2012; 158A: 2519-25.

41. Biesecker LG. Incidental Variants Are Critical for Genomics. *The Am J Hum Genet*. 2013;92: 648-51.

42. Christenhusz GM, Devriendt K, Peeters H, Vans Esch H, Diedrickx K. The Communication of Secondary Variants: Interviews with Parents whose Children have Undergone Array-CGH Testing. *Clin Genet*. 2014;86(3):207-16

43. Green RC, et al. ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. *Genet Med* 2013; 15(7):565-74.

44. Burke W, et al. Recommendations for returning genomic incidental findings? We need to talk! *Genet Med*. 2013;15(11):854-9.



ANEXO 1

DESCRIÇÃO DO SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO E DA TÉCNICA DE “CHROMOSOMAL MICROARRAY”

O sequenciamento completo do exoma, como os demais testes de DNA, pode ser realizado a partir de sangue periférico (ou de outra amostra biológica que contenha células nucleadas), do qual se extrai o DNA genômico; a partir do DNA total, capturam-se os éxons das amostras (preparação da biblioteca). Em seguida à captura dos éxons, as bibliotecas são sequenciadas em aparelhos “*Next-Generation*”. As sequências geradas (“*reads*”) são alinhadas com o genoma de referência e as alterações candidatas são identificadas e filtradas através de ferramentas de bioinformática. Um quadro esquemático com as fases sequenciais de todo o processo está exposto a seguir (**Quadro 3**).

Após a amostra ser submetida ao sequenciamento de nova geração, os dados produzidos são da ordem de gigabases por corrida (reação). Geralmente, as sequências são curtas e há necessidade de *softwares* de análise com grande poder de processamento. A qualidade dos dados obtidos será inicialmente averiguada com ferramentas de bioinformática. As sequências geradas pelo equipamento são filtradas de acordo com escores de qualidade e aquelas com níveis inferiores ao estipulado são removidas. As amostras são então alinhadas ao genoma de referência com algoritmos de alto desempenho e os arquivos resultantes são convertidos para formatos mais acessíveis para simplificar as análises subsequentes.

Diferentes algoritmos analíticos dependendo do modelo de doença estudado podem ser usados, considerando tanto os dados clínicos quanto às sequências geradas.

Como padrão-ouro para a investigação da etiologia genética dos casos de deficiência intelectual, temos os ensaios por microarranjos, esta técnica de “chromosomal microarray” consiste em uma coleção de moléculas de DNA de fita única marcadas com um fluoróforo e fixas em um substrato sólido - lâmina ou chip de DNA - sobre a qual é depositada a amostra de DNA a ser testada para que ocorra uma reação de hibridação. Como as sequências das moléculas de DNA fixas na lâmina (sondas) são conhecidas e representativas de todo o



genoma, após a hibridação é feita a análise do chip por softwares específicos que identifica perdas e/ou ganhos de material genético, sendo assim, esta técnica realizada de maneira automatizada e interpretada por profissional especializado tem grande empregabilidade clínica na genética médica pois permite detectar desbalanços cromossômicos como microdeleções e microduplicações numa resolução superior ao cariótipo convencional.

Quadro 3- Fases básicas representativas do processo de sequenciamento de nova geração.

Extração do DNA genômico a partir de amostras de sangue periférico	Realizada através da técnica fenol-clorofórmio, kits de extração ou similar
Purificação do DNA genômico	Através de kits comerciais de purificação o DNA total é otimizado para 50ng de DNA genômico total. A taxa de absorvância 260/280nm que mede a pureza da amostra deve estar entre 1.8 e 2.0
Tagmentação do DNA genômico	O DNA genômico purificado é fragmentado e, de forma simultânea, são adicionadas sequências adaptadoras (tags) ao mesmo. Ambas as reações são catalisadas pela enzima Nexteratransposoma. São adicionados 20ul de DNA genômico (2.5ng/ul) a 25ul de tampão TD e 5ul da enzima TD (enzima de tagmentação do DNA). A reação é transferida para um termociclador onde é submetida à incubação a 55°C durante cinco minutos.
Purificação do DNA genômico tagmentado	O DNA tagmentado é novamente purificado e a purificação é realizada através de esferas magnéticas com kits comerciais.
Amplificação por PCR	O objetivo desta etapa é amplificar o DNA tagmentado e purificado através de um programa de PCR em um termociclador. A reação de PCR irá inserir indexadores e adaptadores comuns, necessários para a geração de clusters e sequenciamento das amostras, que serão transferidas para um termociclador e submetidas ao seguinte programa: incubações por 72°C por três minutos e 98°C por 30 segundos, seguidos de 10 ciclos de 98°C por 10 segundos, 60°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos e incubação final a 72°C por cinco minutos.
Purificação do produto de PCR	São utilizadas novamente as esferas magnéticas de kits. As esferas irão purificar a biblioteca de DNA, além de remover fragmentos muito pequenos da população total de moléculas.
Primeira Hibridação	Este processo permite que as regiões que queremos capturar e enriquecer (exoma) se liguem às sondas de captura. Para realizá-la, são utilizados 500ng de cada biblioteca quantificada e são formados "pools". Até 12 bibliotecas podem fazer parte do pool com um único indexador.



Primeira Lavagem	Nesta fase são utilizadas esferas magnéticas com estreptavidina para capturar as sondas contendo as regiões enriquecidas de interesse. Três etapas de purificação irão remover os ligantes inespecíficos das esferas. A biblioteca enriquecida é então eluída das esferas e preparada para uma segunda hibridação.
Continuação	
Segunda Hibridação	Nesta etapa ocorre a captura da biblioteca de DNA eluída pelas sondas específicas para as regiões de interesse (exoma). A segunda hibridação assegura que as regiões correspondentes aos exons sejam enriquecidas. A reação será transferida para um termociclador e submetida ao programa: incubação a 95°C por 10 minutos, seguido de 18 ciclos de 93°C por um minuto (com decréscimo de 2°C por ciclo) e 58°C “overnight”.
Segunda Lavagem	Esta etapa também utiliza esferas magnéticas com estreptavidina para capturar sondas contendo as regiões enriquecidas de interesse (exoma). Três etapas de purificação irão remover os ligantes inespecíficos das esferas. Todas as etapas são idênticas às descritas na etapa de Primeira Lavagem.
Amplificação por PCR	O objetivo desta etapa é utilizar a PCR para amplificar a biblioteca enriquecida de DNA. A biblioteca amplificada será utilizada nas reações de sequenciamento.
Validação da Biblioteca Enriquecida	O objetivo desta etapa é realizar o controle de qualidade e a quantificação da biblioteca de DNA. Para que dados de alta qualidade sejam obtidos nas plataformas de sequenciamento Illumina é necessário que se atinja uma densidade ideal de clusters em cada linha da <i>flowcell</i> . Isto requer uma quantificação precisa das bibliotecas de DNA. A próxima etapa é o experimento de qPCR que será realizado com kits comerciais e <i>primers</i> específicos. As bibliotecas quantificadas serão diluídas a uma concentração padrão para a etapa de <i>clusterização</i> .
Clusterização e Sequenciamento de Nova Geração	Durante a <i>clusterização</i> um volume de 10ul de DNA molde (2nM) é combinado com 10ul de NaOH 0.1N e incubado durante cinco minutos, esta etapa desnatura as fitas. Em seguida 20ul de DNA desnaturado é transferido para um tubo contendo tampão de hibridação (HT1). O DNA desnaturado é então diluído com HT1 para um volume final de 1000ul em cinco concentrações diferentes. São transferidas partes da amostra DNA + HT1 e da biblioteca controle para oito tubos. As amostras são submetidas à <i>clusterização</i> e após a etapa de <i>clusterização</i> as amostras são sequenciadas em um sequenciador de nova geração. As amostras são multiplexadas para que possam ser submetidas ao sequenciamento na mesma “lane”. O sequenciamento geralmente é realizado em 2x100pb, com cobertura mínima de 100 x (mais de 95% dos SNPs são identificados com esta taxa de cobertura).



ANEXO 2

RELAÇÃO DE ARTIGOS SELECIONADOS APÓS EXCLUSÃO DOS TRABALHOS REDUNDANTES

Efficient strategy for the molecular diagnosis of intellectual disability using targeted high-throughput sequencing. Redin C, et al.
Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. Srivastava S, et al.
Challenges and opportunities in the investigation of unexplained intellectual disability using family-based whole-exome sequencing. Helmsmoortel C, Vandeweyer G, Ordoukhanian P, Van Nieuwerburgh F, Van der Aa N, Kooy RF.
Prioritization of neurodevelopmental disease genes by discovery of new mutations. Hoischen A, Krumm N, Eichler EE.
Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. Rauch A, et al
Detection of clinically relevant copy number variants with whole-exome sequencing. De Ligt J, et al.
Sequencing inches closer to the clinic: neonatal, intellectual disorders identified. Kuehn BM.
Whole-exome sequencing for finding de novo mutations in sporadic mental retardation. Robinson PN.
Advances in genetic diagnosis of neurological disorders. Toft M.
Making headway with genetic diagnostics of intellectual disabilities. Willemsen MH, Kleefstra T.
Exome sequencing in unspecific intellectual disability and rare disorders. Rauch A.
Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. Moeschler JB, Shevell M, Saul RA, Chen E, Freedenberg DL, Hamid R, Jones MC, Stoler JM, Tarini BA.
Whole-exome sequencing emerges as clinical diagnostic tool: Testing method proves useful for diagnosing wide range of genetic disorders. Levenson D.
Exome sequencing in the diagnostics of developmental delay/intellectual disability. Willemsen MH, Kleefstra T, Yntema HG.
Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of rare genetic syndromes. Madrigal I, Alvarez-Mora MI, Karlberg O, Rodríguez-Revenga L, Elurbe DM, Rabionet R, Mur A, Pie J, Ballesta F, Sauer S, Syvänen A-C, Milà M.



Next generation sequencing in nonsyndromic intellectual disability: From a negative molecular karyotype to a possible causative mutation detection. Athanasakis E, Licastro D, Faletra F, Fabretto A, Dipresa S, Vozzi D, Morgan A, D'Adamo AP, Pecile V, Biarnés X, Gasparini P.

Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. Soden SE, Saunders CJ, Willig LK, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE, LePichon J-B, Miller NA, Thiffault I, Dinwiddie DL, Twist G, Noll A, Heese BA, Zellmer L, Atherton AM, Abdelmoity AT, Safina N, Nyp SS, Zuccarelli B, Larson IA, Modrcin A, Herd S, Creed M, Ye Z, Yuan X, Brodsky RA, Kingsmore SF.

Personalized genomic neurology: Future is now. Córdoba M, González Morón D, Rodríguez-Quiroga SA, Kauffman MA.

Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, Van De Vorst M, Van Bon BWM, Willemsen MH, Kwint M, Janssen IM, Hoischen A, Schenck A, Leach R, Klein R, Tearle R, Bo T, Pfundt R, Yntema HG, De Vries BBA, Kleefstra T, Brunner HG, Vissers LELM, Veltman JA.

De Novo Mutations in Moderate or Severe Intellectual Disability. Hamdan FF, Srour M, Capo-Chichi J-M, Daoud H, Nassif C, Patry L, Massicotte C, Ambalavanan A, Spiegelman D, Diallo O, Henrion E, Dionne-Laporte A, Fougerat A, Pshzhetsky AV, Venkateswaran S, Rouleau GA, Michaud JL.

Next-generation sequencing may reduce cost and wait time for some genetic diagnoses: Experts argue that clinical evaluation remains crucial. Levenson D.

Exome sequencing; Lessons from 500 diagnostic exomes. Brunner HG.

Diagnostic exome sequencing in intellectual disability. Veltman JA.

Massively parallel sequencing for diagnosing clinically and genetically heterogeneous disorders. Zhang VW.

Clinical utility of exome sequencing. Neveling K, Gilissen C, Vissers L, De Ligt J, Ijntema H, Feenstra I, Brunner H, Veltman J, Scheffer H, Nelen M.

Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. De Ligt J, Willemsen MH, Van Bon BWM, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, Vulto-Van Silfhout AT, Koolen DA, De Vries P, Gilissen C, Del Rosario M, Hoischen A, Scheffer H, De Vries BBA, Brunner HG, Veltman JA, Vissers LELM.

Non-familial cases of intellectual disability could be linked to de novo genetic mutations: studies suggest the potential of exome sequencing to diagnose causes of severe cases. Levenson D.



Updates in the Genetic Evaluation of the Child with Global Developmental Delay or Intellectual Disability. Flore LA, Milunsky JM.
De novo diagnostics of patients with intellectual disability. Veltman JA.
De novo mutations in human genetic disease. Veltman JA, Brunner HG.
Exome sequencing: A transient technology for molecular diagnostics? Ku C-S, Cooper DN.
Exome and whole-genome sequencing for gene discovery: The future is now! Majewski J, Rosenblatt DS.
Genomics, intellectual disability, and autism. Mefford HC, Batshaw ML, Hoffman EP.
Human genome sequencing in health and disease. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA.
Genome arrays for the detection of copy number variations in idiopathic mental retardation, idiopathic generalized epilepsy and neuropsychiatric disorders: Lessons for diagnostic workflow and research. Hochstenbach R, Buizer-Voskamp JE, Vorstman JAS, Ophoff RA.
De novo mutations in mental retardation. Veltman JA.
Unlocking Mendelian disease using exome sequencing. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, Veltman J.A.
Exome sequencing and the genetics of intellectual disability. Topper S, Ober C, Das S.
Clinical genetics in the era of next generation sequencing. Brunner HG.
Great expectations: Using massively parallel sequencing to solve inherited disorders. Corbett M, Gecz J.

Obs: Os artigos selecionados para compor o corpo da evidência estão marcados com realce.



ANEXO 3

RELAÇÃO DOS ESTUDOS SELECIONADOS (EM VERDE) E DOS EXCLUÍDOS PELA LEITURA DO RESUMO E LEITURA NA ÍNTEGRA DO ARTIGO, COM MOTIVO DE EXCLUSÃO EXPLICITADO À DIREITA (REFERENTE À BUSCA ATUALIZADA EM FEVEREIRO DE 2018)

✓ ANAZI, S. et al. Clinical genomics expands the morbid genome of intellectual disability and offers a high diagnostic yield. <i>Mol Psychiatry</i> , v. 22, n. 4, p. 615-624, Apr 2017. ISSN 1359-4184.	
ANAZI, S. Expanding the genetic heterogeneity of intellectual disability. <i>Hum Genet</i> , v. 136, n. 11-12, p. 1419-1429, Nov 2017. ISSN 0340-6717.	Foco em genes candidatos
✓ BOWLING, K. M. et al. Genomic diagnosis for children with intellectual disability and/or developmental delay. <i>Genome Med</i> , v. 9, n. 1, p. 43-43, 2017.	
✓ CHÉROT, E. et al. Using medical exome sequencing to identify the causes of neurodevelopmental disorders: Experience of 2 clinical units and 216 patients. 2017.	
FITZGERALD, T. et al. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. <i>Nature</i> , v. 519, n. 7542, p. 223-8, Mar 12 2015. ISSN 0028-0836.	Artigo de opinião
GECZ, J.; HAAN, E. New mutations and sporadic intellectual disability. <i>Lancet</i> , v. 380, n. 9854, p. 1630-1, 2012.	Artigo de opinião
GILISSEN, C. et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. <i>Nature</i> , v. 511, n. 7509, p. 344-7, 2014.	Outro método diagnóstico
GIORGIO, E. et al. Whole exome sequencing is necessary to clarify ID/DD cases with de novo copy number variants of uncertain significance: Two proof-of-concept examples. <i>Am J Med Genet A</i> , v. 170, n. 7, p. 1772-9, 2016.	Relato de caso
HARDING, K. E.; ROBERTSON, N. P. Applications of next-generation whole exome sequencing. <i>J Neurol</i> , v. 261, n. 6, p. 1244-6, Jun 2014. ISSN 0340-5354.	Revisão narrativa
HELSMOORTEL, C. et al. Challenges and opportunities in the investigation of unexplained intellectual disability using family-based whole-exome sequencing. <i>Clin Genet</i> , v. 88, n. 2, p. 140-8, Aug 2015. ISSN 0009-9163.	Descrição de fluxo de análise
KVARNUNG, M.; NORDGREN, A. Intellectual Disability & Rare Disorders: A Diagnostic Challenge. <i>Adv Exp Med Biol</i> , v. 1031, p. 39-54, 2017.	Revisão narrativa
LADUCA, H. et al. Exome sequencing covers >98% of mutations identified on targeted next generation sequencing panels. <i>PLoS One</i> , v. 12, n. 2, 2017. ISSN 1932-6203.	Comparação de Painel e WES
LELIEVELD, S. H. et al. Meta-analysis of 2,104 trios provides support for 10 new genes for intellectual disability. <i>Nat Neurosci</i> , v. 19, n. 9, p. 1194-6, 2016/08 2016.	Descrição de novos genes



MADRIGAL, I. et al. Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of rare genetic syndromes. <i>J Clin Pathol</i> , v. 67, n. 12, p. 1099-103, 2014/10 2014.	Relato de caso
MARTINEZ, F. et al. High diagnostic yield of syndromic intellectual disability by targeted next-generation sequencing. <i>J Med Genet</i> , v. 54, n. 2, p. 87-92, Feb 2017. ISSN 0022-2593.	Outro método diagnóstico
MOESCHLER, J. B.; SHEVELL, M. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. <i>Pediatrics</i> , v. 134, n. 3, p. e903-18, 2014.	Revisão narrativa
MONIES, D. et al. The landscape of genetic diseases in Saudi Arabia based on the first 1000 diagnostic panels and exomes. <i>Hum Genet</i> , v. 136, n. 8, p. 921-939, 2017.	Pacientes com outros diagnósticos
✓ MONROE, G. R. et al. Effectiveness of whole-exome sequencing and costs of the traditional diagnostic trajectory in children with intellectual disability. <i>Genet Med</i> , v. 18, n. 9, p. 949-56, 2016.	
NAMBOT, S. et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis. 2017.	Reanálise de exoma
NOLAN, D.; CARLSON, M. Whole Exome Sequencing in Pediatric Neurology Patients: Clinical Implications and Estimated Cost Analysis. <i>J Child Neurol</i> , v. 31, n. 7, p. 887-94, Jun 2016. ISSN 0883-0738.	Não é possível agrupar pacientes com DI
RAUCH, A. Exome sequencing in unspecific intellectual disability and rare disorders. <i>Mol Cytogenet</i> , v. 7, n. Suppl 1 Proceedings of the International Conference on Human, p. I26-I26, 2014.	Resumo de apresentação oral
SODEN, S. E. et al. Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. <i>Sci Transl Med</i> , v. 6, n. 265, p. 265ra168, Dec 3 2014. ISSN 1946-6234.	Não é possível agrupar pacientes com DI
✓ SRIVASTAVA, S. et al. Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. <i>Ann Neurol</i> , v. 76, n. 4, p. 473-83, 2014.	
SUN, Y. et al. Next-generation diagnostics: gene panel, exome, or whole genome? <i>Hum Mutat</i> , v. 36, n. 6, p. 648-55, 2015.	Comparação de diferentes métodos diagnósticos
✓ THEVENON, J. et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. <i>Clin Genet</i> , v. 89, n. 6, p. 700-7, 2016.	
WILLEMSEN, M. H.; KLEEFSTRA, T. [Genetic diagnostics in intellectual disability: what is the benefit?]. <i>Ned Tijdschr Geneesk</i> , v. 158, p. A8098, 2014. ISSN 0028-2162.	Artigo de opinião
✓ YANG, Y. et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. <i>Jama</i> , v. 312, n. 18, p. 1870-9, Nov 12 2014. ISSN 0098-7484.	✓
YAVARNA, T. et al. High diagnostic yield of clinical exome sequencing in Middle Eastern patients with Mendelian disorders. <i>Hum Genet</i> , v. 134, n. 9, p. 967-80, 2015.	Não é possível agrupar pacientes com DI

