

**Tese de Doutorado**

**ESTUDO DE CUSTOS EM DOENÇAS CRÔNICAS NÃO  
TRANSMISSÍVEIS: MANEJO DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA E  
DIAGNÓSTICO PRECOCE DE CÂNCER HEREDITÁRIO**

**Rosane Paixão Schlatter**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA  
SAÚDE: CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS  
CARDIOVASCULARES



**ESTUDO DE CUSTOS EM DOENÇAS CRÔNICAS NÃO  
TRANSMISSÍVEIS: MANEJO DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA E  
DIAGNÓSTICO PRECOCE DE CÂNCER HEREDITÁRIO**

Autor: Rosane Paixão Schlatter

Orientadora: Profa. Dra. Carisi Anne Polanczyk

*Tese submetida como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutor ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências da Saúde:  
Cardiologia e Ciência Cardiovasculares, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*

Porto Alegre

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: CARDIOLOGIA  
E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**ESTUDO DE CUSTOS EM DOENÇAS CRÔNICAS NÃO  
TRANSMISSÍVEIS: MANEJO DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA E  
DIAGNÓSTICO PRECOCE DE CÂNCER HEREDITÁRIO**

Autor: Rosane Paixão Schlatter

Orientadora: Profa. Dra. Carisi Anne Polanczyk

*Tese submetida como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutor ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências da Saúde:  
Cardiologia e Ciência Cardiovasculares, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*

Porto Alegre

2016

## CIP - Catalogação na Publicação

Schlatter, Rosane Paixão

ESTUDO DE CUSTOS EM DOENÇAS CRÔNICAS NÃO  
TRANSMISSÍVEIS: MANEJO DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA E  
DIAGNÓSTICO PRECOCE DE CÂNCER HEREDITÁRIO / Rosane  
Paixão Schlatter. -- 2016.

123 f.

Orientador: Carisi Anne Polanczyk.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e  
Ciências Cardiovasculares, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Custos da doença. 2. Cardiopatia isquêmica. 3.  
Técnicas de diagnóstico molecular. 4. Câncer  
hereditário. 5. Avaliação de Tecnologias em Saúde. I.  
Polanczyk, Carisi Anne, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

À minha família, **Caroline, Guilherme e Gilberto Schlatter** pelo amor, por acreditarem em mim e participarem em todos os momentos do meu desenvolvimento acadêmico.

À minha mãe, **Diocicia Perez Paixão**, pelo amor e por ter me ensinado a gostar dos livros quando eu ainda não tinha aprendido a ler (*in memoriam*).

À minha orientadora, **Profa. Dra. Carisi Anne Polanczyk**, pela confiança, estímulo e orientação em todas as etapas deste trabalho. Pelo exemplo de liderança que nos inspira diariamente a buscar o crescimento intelectual e pessoal.

À **Profa. Dra. Patrícia Ashton Prolla** pelo incentivo e carinho ao longo destes anos de convivência e trabalho conjunto. Por compartilhar seus ideais e oportunizar que eu participe deles.

Ao **Prof. Dr. Maurício Guidi Saueressig** pelo incentivo e oportunidade de participar em seus projetos.

À **Vânia Naomi Hirakata** pela parceria e aulas de estatística que tornaram este trabalho possível, minha eterna gratidão.

À **Sabrina Dias** pela amizade, carinho e apoio ao longo dos anos.

Aos professores e colegas do **Programa de Pós-Graduação em Cardiologia e Ciências Cardiovasculares**, em especial, **Prof. Dr. Flávio Fuchs e Profa. Dra. Sandra Fuchs**, pelo incentivo recebido ao longo desta trajetória, pela confiança e oportunidade de participar em seus projetos.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos**, coordenador, e aos colegas do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação, em especial, **Prof. Dr. José Roberto Goldim, Profa. Dra. Úrsula Matte, Eliane Reisdorfer e Rosa Maidana** pelo incentivo ao longo destes anos.

Aos colegas do **Instituto de Avaliação de Tecnologias em Saúde**, em especial, **Dra. Mariana Furtado, Angélica Zanotto, Yuri Machado, Luiz Dibe Filho e Mauren Haeffner** pelo apoio e agradáveis momentos de troca de ideias.

Ao **Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, em especial, aos dirigentes **Prof.Dr.Amarilio Vieira de Macedo Neto e Profa.Dra.Nadine Clausell**, pelo estímulo ao crescimento acadêmico.

## LISTA DE ABREVIATURAS EM PORTUGUÊS

ABC	Custeio baseado em Atividade
AGH	Aplicativo de Gestão Hospitalar
AIH	Autorização de Internação Hospitalar
ATS	Avaliação de Tecnologias em Saúde
CCS	Classe funcional
CID-10	Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados a Saúde
CK	Creatinofosfoquinase
CK-MB	Creatinofosfoquinase Fração MB
CRM	Cirurgia de revascularização do miocárdio
DAC	Doença arterial coronariana
EQU	Exame qualitativo de urina
GLM	Modelos Lineares Generalizados
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IPCA	Índice Nacional de Preços Amplo
LPM	Lista de Procedimentos Médicos
MAPA	Monitorização Ambulatorial de Pressão Arterial
MS	Ministério da Saúde
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PIB	Produto Interno Bruto
REBRATS	Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde
RNCF	Rede Nacional de Câncer Familiar
SUS	Sistema Único de Saúde
TGO	Transaminase Glutâmico-Oxalacética
TGP	Transaminase Glutâmico-Pirúvica
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo

## LISTA DE ABREVIATURAS EM INGLÊS

ABC	Activity-Based Costing
AGH	Application for Hospital Management
ANS	National Health Agency
CADTH	The Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health
DNA	Deoxyribonucleic acid
FDA	Food and Drug Administration
HRM	High Resolution Melting
HTAI	Health Technology Assessment International
LFL	Li-Fraumeni-Like Syndrome
LFS	Li-Fraumeni Syndrome
MLPA	Multiplex ligation probe amplification
MSY	Microsatellite instability
NICE	National Institute for Clinical Excellence
PCR	Polymerase chain reaction
PCR-RFLP	Polymerase Chain Reaction followed by Restriction Fragment Length Polymorphism analysis
QALY/AVAQ	Ano de Vida Ajustado por Qualidade
SOP	Standard Operating Procedure
TaqMan	Real-time TaqMan PCR



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Artigo 1

Tabela 1 - Características basais da população (n = 330) .....	44
Tabela 2 - Preços unitários do Sistema Único de Saúde.....	45
Tabela 3 - Custos totais ambulatoriais para o SUS .....	46
Tabela 4 - Custos médios por internação e totais cumulativos no período de seguimento .....	47
Tabela 5 - Custos totais por paciente considerando ambulatório e internação .....	48
Tabela 6 - Custo anual mediano por paciente estratificado por preditores clínicos.....	49
Figura 1 - Proporção dos custos individualizados no custo total durante o seguimento .....	50
Figura 2 - Custo total no Sistema Único de Saúde por ano de seguimento (em mediana) .....	51
Figura 3 - Custo total médio para o SUS por número de eventos maiores (cirurgia de revascularização do miocárdio, internação e óbito) .....	52
Figura 4 - Custo anual por paciente para o SUS considerando as probabilidades estimadas de acordo com os preditores clínicos significantes na análise bivariada (angina instável, angioplastia, cirurgia de revascularização, diabete, hipertensão e obesidade) .....	53
Tabela S7 - Custos com medicamentos .....	54
Tabela S8 - Quantitativo de exames realizados na internação no período de seguimento .....	55
Tabela S9 - Quantitativo total de exames realizados no seguimento .....	56

### Artigo 2

Table 1 - Cost calculation for polymerase chain reaction (PCR) technique .....	72
Table 2 - Change in costs (%) according to the use of available capacity .....	73
Table 3 - Cost calculation for the complete analysis of the coding sequence of <i>BRCA</i> genes by Sanger sequencing using 100 % of installed capacity .....	74
Table S1 - DNA isolation from peripheral blood (Commercial column extraction kit – GE) for 12 samples (*) .....	75
Table S2 - DNA isolation from peripheral blood (Commercial kit – GENTRA Puregene) for 16 samples .....	76
Table S3 - DNA isolation from formalin fixed paraffin embedded tissue (Commercial kit PROMEGA) for 24 samples (*) .....	77
Table S4 - DNA quantification using the Nanodrop equipment for 100 samples (*) .....	78
Table S5 - MLPA (12 samples and 4 controls) (*) .....	79

Table S6 - PCR product purification for 96 samples (*) .....	80
Table S7 - Sanger sequencing 96 samples – unlabelled (*) .....	81
Table S8 - Microsatellite instability (MSI) – (94 samples + 2 controls) .....	82
Table S9 - Immunohistochemistry panel – 4 antibodies against MMR proteins, per patient .....	83
Table S10 - Preparation of formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissue for scraping before DNA extraction .....	84
Table S11 - Summary Available Capacity .....	85
<b>Artigo 3</b>	
Table 1 - Features of each <i>TP53</i> -p.R337H genotyping method .....	104
Table 2 - Costs of the <i>TP53</i> -p.R337H analysis for one patient .....	105
Figure 1 - Costs of each analytical step of <i>TP53</i> -p.R337H genotyping by different methods for one patient .....	106
Figure 2 - (A) Cost variation of HRM analysis for screening of the <i>TP53</i> -p.R337H mutation according to estimated mutation prevalence, in comparison to costs of sanger sequencing, real-time TaqMan PCR and PCR-RFLP. (B) Expected mutation prevalence scenario .....	107
Table S1 - Costs of <i>TP53</i> -p.R337H genotyping for 100 patients according to expected mutation prevalence .....	108
Figure S1 - Representative images of results obtained with the different genotyping methodologies employed for <i>TP53</i> -p.R337H analysis .....	109

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo realizar estudos de custos sob a perspectiva do Sistema Único de Saúde em dois temas relevantes para a saúde da população: o manejo clínico da cardiopatia isquêmica e os exames de diagnóstico molecular para rastreamento precoce de câncer hereditário. O estudo contempla a revisão teórica de avaliações econômicas e custos em saúde que consistiram no arcabouço conceitual para os dois temas. Para o estudo na área de cardiopatia isquêmica foi realizada uma coorte retrospectiva com 330 pacientes acompanhados em ambulatório especializado para os quais foram identificados e valorados os recursos utilizados em nível ambulatorial e hospitalar. Os resultados são apresentados no artigo 1.

Nos estudos para avaliação de método diagnóstico, o câncer hereditário foi o tema escolhido, realizando-se a identificação dos custos operacionais na realização de diferentes testes para verificação de mutação do gene BRCA1 no câncer de mama hereditário no artigo 2 e para a identificação da mutação do gene TP53 p.R337H relacionado à predisposição de câncer familiar no artigo 3.

Esses três estudos poderão subsidiar pesquisas em outras áreas clínicas e futuras avaliações de custo-efetividade de estratégias terapêuticas nos temas abordados.

**Palavras-chave:** Avaliação Econômica em Saúde. Custos da Doença. Cardiopatia Isquêmica. Técnicas de Diagnóstico Molecular. Oncogenética.

## ABSTRACT

This study aimed to do direct costs analysis from the perspective of the Brazilian public health system, covering two topics which are relevant to the health of the Brazilian population: the clinical management of ischemic cardiomyopathy and of molecular diagnostic technologies for early screening in cancer genetics. The study includes a theoretical review of economic evaluations and of appropriation of costs related to health that composed the conceptual framework for the two topics. For the study of ischemic cardiomyopathy, we did a retrospective cohort with 330 patients followed in a specialized ambulatory, for whom the resources utilized in ambulatory and in-patient level were identified and valued and used as model. The results are presented in article 1.

In the studies to evaluation of diagnosis method, hereditary cancer was the chosen subject and we did the identification of operational costs involved in the testing for the mutation of the BRCA1 gene in hereditary breast cancer in article 2 and in the testing for the mutation of the TP53 p.R337H gene, which relates to the predisposition to familial cancer, in article 3.

These three studies may subsidize research in other clinical fields, as well as future cost-effectiveness evaluations of therapeutic strategies regarding the broached subjects.

**Keywords:** Economic Evaluation. Costs analysis. Coronary Artery Disease. Molecular Diagnostic Technologies. Oncogenetic.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 JUSTIFICATIVA .....	3
1.2 OBJETIVOS .....	4
<b>1.2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>4</b>
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	5
2.1 AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE.....	5
2.2 ANÁLISES ECONÔMICAS EM SAÚDE.....	7
<b>2.2.1 Tipo de Análises .....</b>	<b>9</b>
2.2.1.1 Análise de Custo-efetividade .....	10
2.2.1.2 Análise de Custo-utilidade.....	11
2.2.1.3 Análise de Custo-minimização .....	12
2.2.1.4 Análise de Custo-benefício.....	13
2.2.1.5 Análise de Custos da Doença .....	14
2.3 CUSTOS EM SAÚDE.....	15
<b>2.3.1 Estimativas de Custos .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.2 Métodos de Custeio .....</b>	<b>18</b>
REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	20
ARTIGO 1: AVALIAÇÃO DOS CUSTOS DIRETOS DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA: ESTUDO DE COORTE .....	24
ARTIGO 2: COSTS OF GENETIC TESTING: SUPPORTING BRAZILIAN PUBLIC POLICIES FOR THE INCORPORATING OF MOLECULAR DIAGNOSTIC TECHNOLOGIES.....	56
ARTIGO 3: COMPARISON OF MULTIPLE GENOTYPING METHODS FOR THE IDENTIFICATION OF THE CANCER PREDISPOSING FOUNDER MUTATIONP. R337H IN <i>TP53</i> .....	85
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	109

## 1 INTRODUÇÃO

Nas duas últimas décadas, os gastos em saúde vêm aumentando em diversos países, independente do seu nível de desenvolvimento. Representavam 7% do Produto Interno Bruto (PIB) mundial na década de 2000 e passaram para 9,5% em 2012 conforme dados da Organização Mundial de Saúde<sup>1</sup>.

Entre os fatores que contribuem para esse aumento encontram-se o crescimento da população, as maiores taxas de expectativa de vida, a redução da mortalidade infantil, a ampliação do acesso à assistência à saúde através de políticas públicas e a introdução de novas tecnologias para a prestação de cuidados em saúde<sup>1</sup>.

Contudo, maiores dispêndios nos gastos em saúde não garantem melhores condições de saúde coletiva, nem equidade no acesso aos serviços. Nos países desenvolvidos, as políticas públicas concentram-se em buscar eficiência, efetividade e equidade nos gastos enquanto que nos países em desenvolvimento, o foco consiste na acessibilidade, melhoria da qualidade dos serviços e na eficiência dos gastos em função da concorrência do financiamento em saúde com outras necessidades de desenvolvimento econômico e social<sup>2</sup>.

As novas tecnologias mudaram o cenário da prestação de cuidados através do desenvolvimento de produtos mais eficazes para a prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças, contribuindo para a melhoria de indicadores epidemiológicos de saúde pública no decorrer das décadas de 1980 e 1990. Se por um lado as novas tecnologias refletiram em avanços na prática assistencial, por outro, têm sido consideradas como um dos principais fatores do crescimento de gastos no setor saúde devido a sua rápida adoção e difusão<sup>3,4</sup>.

As tecnologias em saúde incluem:

Medicamentos, equipamentos e procedimentos técnicos, sistemas organizacionais, educacionais, de informação e de suporte e os programas e protocolos assistenciais, por meio dos quais a atenção e os cuidados com a saúde são prestados à população<sup>5</sup>.

Característica própria das tecnologias em saúde é o caráter complementar ou cumulativo, ou seja, a nova tecnologia não substitui a anterior e sim, é utilizada concomitantemente, o que contribui para o aumento dos custos em saúde.

A alteração no perfil demográfico e epidemiológico das populações, o aumento dos gastos com a saúde, a necessidade de equilibrar os orçamentos públicos e buscar a eficiência na alocação dos recursos atendendo às demandas sociais oportunizaram o crescimento da área de Economia em Saúde que pode ser definida como:

A área de conhecimento que objetiva o estudo das condições ótimas de distribuição dos recursos disponíveis para assegurar à população a melhor assistência à saúde e o melhor estado de saúde possível, tendo em conta meios e recursos limitados<sup>6</sup>.

Um dos campos de atuação da Economia da Saúde consiste na realização de avaliações econômicas da introdução de novas tecnologias no setor saúde para auxílio no processo de tomada de decisão em relação à introdução ou não destas tecnologias nos Sistemas de Saúde.

Países como Austrália, Canadá, Inglaterra e Estados Unidos implantaram diretrizes próprias para avaliação de tecnologias em saúde que incluem a avaliação econômica como requisito básico para análise pelo órgão regulador que recomendará sua inserção ou não no Sistema. No Brasil, o Ministério da Saúde vem seguindo a mesma linha de conduta e desde a década de 2000 desenvolve estratégias e ações para implantar a avaliação de tecnologias em saúde como prática institucionalizada.

Parte importante para a realização de avaliações econômicas é a determinação dos custos da doença (*cost-of-illness studies*) que consistem em identificar e valorar os recursos associados a um determinado agravo de saúde a fim de avaliar o impacto econômico no Sistema de Saúde e fornecer subsídios para as decisões de alocação de recursos e definições de políticas públicas de saúde<sup>7</sup>. Contudo, na literatura nacional são escassas as publicações que se dedicam ao estudo dos custos das doenças talvez em parte, por serem consideradas avaliações econômicas parciais tendo em vista que não consideram segurança, efetividade e eficácia em suas análises.

Neste contexto, este projeto visa o desenvolvimento de análises de custos na área de cardiologia e oncogenética como forma de contribuir para o desenvolvimento na área de avaliações econômicas em saúde.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Devido ao impacto crescente dos custos associados à absorção de tecnologias em saúde e ao aumento da demanda dos usuários pelos serviços de assistência à saúde, cabe ao gestor público a responsabilidade pela utilização racional dos recursos de forma a atender os direitos e o bem-estar social da coletividade. A avaliação de tecnologias em saúde subsidia o gestor na tomada de decisão com base em evidências científicas abrangendo questões clínicas (segurança, eficácia, efetividade), éticas, legais e de acessibilidade (análises de custos, restrições de uso, preços, oferta pelo setor público).

Nas últimas décadas aumentaram o número de ensaios clínicos que avaliam medicamentos, dispositivos médicos e procedimentos e incluem a análise econômica como parte do estudo devido às exigências dos órgãos reguladores de alguns países.

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) definiu em 2006 a política de incorporação de novas tecnologias no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) preconizando a avaliação econômica como item fundamental para a análise da incorporação de novas tecnologias<sup>5</sup>. Em 2007, um grupo de trabalho designado pelo MS elaborou a versão inicial das Diretrizes Metodológicas para Estudos de Avaliação Econômica de Tecnologias em Saúde (ATS) para o Ministério da Saúde com a finalidade de padronizar as avaliações realizadas por pesquisadores e técnicos do Ministério, permitindo a possibilidade de revisão e reprodução dos estudos<sup>8</sup>. E em 2011, foi criada a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS para dispor sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologia em saúde no âmbito do sistema<sup>9</sup>. Estas iniciativas propiciaram o crescimento dos estudos de ATS desenhados e conduzidos na realidade da saúde da população brasileira.

Nesse contexto, este projeto se insere na Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde, especificamente na subagenda “Avaliação de Tecnologias e Economia em Saúde” voltada ao desenvolvimento de estudos de análise econômica de novas tecnologias e do impacto da incorporação destas no SUS através da realização de três estudos de avaliação de custos na área de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). O primeiro estudo volta-se à estimativa dos custos na área de doenças cardiovasculares, especificamente o manejo da cardiopatia isquêmica e



o segundo e o terceiro estimam os custos de exames moleculares de diagnóstico para rastreamento precoce na área de oncogenética.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Realizar avaliações de custos na área da saúde abordando manejo clínico e métodos diagnósticos na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS) em temas relevantes para a saúde da população brasileira.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Artigo 1: Estimar os custos diretos do manejo da cardiopatia isquêmica em coorte de pacientes do ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de janeiro de 2000 a outubro de 2015 na perspectiva do Sistema Único de Saúde;

Artigo 2: Identificar os custos operacionais para testes de diagnóstico molecular de algumas doenças relacionadas a câncer hereditário e priorizadas pela Rede Nacional de Câncer Familiar (RNCF);

Artigo 3: Identificar os custos operacionais de diferentes métodos de genotipagem para identificação de predisposição à câncer através da mutação p.R337H em TP53 considerando a capacidade instalada do laboratório.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE

A abordagem conceitual que embasa os métodos de avaliação econômica surgiu por volta de 1935 quando Lionel Robbins sistematizou a economicidade das ações humanas ao considerar que o homem age economicamente quando faz uma escolha entre opções para atingir um determinado estágio de prosperidade e bem-estar individual ou coletivo. Desta forma, qualquer decisão para alocar recursos implica em uma relação entre custos que são os meios utilizados e benefícios que são os fins alcançados, bem como na ocorrência de custos de oportunidade que se referem a outros fins que poderiam ter sido alcançados com os mesmos recursos<sup>10</sup>.

Qualquer que seja o nível de desenvolvimento de uma sociedade, ela enfrentará o dilema de como aplicar os recursos escassos de forma a obter o máximo aproveitamento e atingir o fim desejado. Este dilema fundamenta a avaliação econômica em dois pontos principais, a escassez de recursos e a determinação de prioridades. Avaliações econômicas podem, também, ser utilizadas para prover informações sobre os custos dos serviços destinados ao bem-estar social em diferentes perspectivas, como por exemplo, do prestador do serviço, do órgão financiador e dos usuários e para avaliar a relação entre custos e eficácia dos serviços e direcionar o planejamento de políticas públicas<sup>11</sup>.

Na área da saúde, o conceito econômico de escassez foi introduzido a partir do alto custo de incorporação de novas tecnologias e frente à necessidade de atender uma demanda por serviços cada vez maior com o mesmo nível de recursos. A necessidade permanente de decidir em qual alternativa os recursos seriam aplicados possibilitou a introdução da avaliação econômica como instrumento de apoio à tomada de decisão e o surgimento da Avaliação de Tecnologias em Saúde (ATS) como um campo específico.

A ATS é:

Uma área multidisciplinar que tem como objetivo fornecer aos tomadores de decisão as informações sobre os possíveis impactos e consequências de uma nova tecnologia ou de mudanças em uma tecnologia estabelecida de forma hierarquizada e considerando as implicações econômicas, sociais, políticas, ambientais e legais para a sociedade<sup>12</sup>.

No contexto internacional, a ATS é centrada no Modelo de Medicina Baseada em Evidências e abrange procedimentos, equipamentos e medicamentos considerando diversos aspectos como segurança, eficácia, efetividade, custo-efetividade e consequências sociais, econômicas e éticas. Desta forma, a ATS coleta informações sistematizadas sobre as novas tecnologias e avalia o impacto micro e macroeconômico. No campo microeconômico, a avaliação considera os benefícios e os custos da nova tecnologia comparando-os com alternativas existentes e no macroeconômico, avalia os impactos da nova tecnologia nos programas de saúde, nas políticas públicas e no sistema de saúde.

Atualmente, diversos países adotam a ATS como item obrigatório para a inclusão de novas tecnologias no sistema de saúde, como por exemplo, Austrália, Canadá, Estados Unidos e Inglaterra. Na Inglaterra, o *National Institute for Clinical Excellence* (NICE) fornece orientações, estabelece normas de qualidade, seleciona e avalia tecnologias médicas que tenham potencial para oferecer benefícios substanciais para os pacientes ou para o sistema, incluindo em seus estudos avaliações econômicas sobre a tecnologia. Na tomada de decisão, são considerados os fatores de eficácia, efetividade, custo-efetividade, benefícios clínicos e questões éticas. Desta forma, algumas tecnologias que tragam resultados econômicos desfavoráveis podem ser incluídas no sistema em funções das questões clínicas ou éticas<sup>13</sup>.

No Canadá, a *The Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health* (CADTH) apoia avaliações baseadas em evidências em temas de interesse para o sistema público de saúde. Os relatórios da CADTH avaliam tecnologias de saúde, incluindo medicamentos, dispositivos, sistemas e serviços, em geral, que tenham evidências disponíveis, considerando eficácia clínica, custo-efetividade e impacto social e econômico no sistema. Com um sistema de saúde descentralizado, mais recentemente tem havido críticas às avaliações realizadas em nível local, à burocratização do processo e à falta de informação sobre a influência que as avaliações econômicas têm na decisão<sup>14</sup>. Desde 1998, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) exige a apresentação de avaliações econômicas dos produtos para os quais a indústria solicita registro, contudo, estas informações ficam restritas a agência.

Iniciativas do Ministério da Saúde brasileiro, a partir da década de 2000, vêm tentando introduzir a avaliação econômica para as novas tecnologias propostas ao SUS. Em 2002, foram estabelecidos protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas para a lista de medicamentos excepcionais do SUS, considerando eficácia e efetividade e em 2003, o processo de registro de medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos no país passa a exigir informações econômicas sobre o produto. Outras iniciativas governamentais foram a criação da Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde (REBRATS) em 2008 com o objetivo de:

Produzir e disseminar estudos e pesquisas prioritárias no campo de ATS, padronizar metodologias, monitorar o horizonte tecnológico, validar a qualidade dos estudos e promover o uso de evidência científica para o processo de tomada de decisão em saúde<sup>15</sup>.

E a aprovação da Política Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde cujo objetivo é “maximizar os benefícios de saúde a serem obtidos com os recursos disponíveis, assegurando o acesso da população a tecnologias efetivas e seguras, em condições de equidade”<sup>15</sup>.

## 2.2 ANÁLISES ECONÔMICAS EM SAÚDE

Avaliações econômicas consistem na análise comparativa dos cursos alternativos de ação tanto em termos de custos como de consequências. Portanto, a tarefa básica de qualquer análise econômica é identificar, medir, valorar e comparar os custos e consequências das alternativas que estão sendo consideradas. Visam a eficiência técnica, ou seja, o melhor uso dos recursos e a eficiência alocativa que consiste na distribuição dos recursos entre diferentes programas ou intervenções para atingir o mais alto nível de bem-estar social<sup>16,17</sup>.

As Avaliações de Tecnologias em Saúde são avaliações econômicas voltadas à análise das consequências da adoção de novas tecnologias na área da saúde. A *Health Technology Assessment International* (HTAI) define a ATS como a avaliação sistemática das propriedades, efeitos e outros impactos das tecnologias de cuidados de saúde de forma a fornecer informações objetivas para apoiar decisões de saúde e formulação de políticas públicas em todos os níveis de governo a partir da identificação, valoração e comparação dos custos e as consequências das

alternativas disponíveis atribuindo um valor econômico para cada intervenção ou programa<sup>18,19,20</sup>.

Avaliações econômicas tem como arcabouço teórico a economia do bem-estar que preocupa-se com o bem-estar geral da sociedade avaliando a eficiência econômica e a distribuição de renda<sup>21</sup>. Na literatura são identificadas duas abordagens de avaliações econômicas em saúde: *welfarism* e *extra-welfarism*. A abordagem welfarista considera os seguintes princípios<sup>22</sup>:

1. da utilidade: os indivíduos racionalmente maximizam o seu bem-estar, ordenando as opções e escolhendo a preferida;
2. da soberania individual: os indivíduos são eles próprios os melhores juízes para avaliar o que mais contribui para o seu bem-estar e qual o valor desta contribuição;
3. do consequencialismo: utilidade é derivada dos resultados do comportamento e processos;
4. do assistencialismo: julgamento do estado ótimo apenas por informações de utilidade.

Um dos fundamentos utilizados para o julgamento do bem-estar social é o critério ótimo de Pareto que considera que uma melhora em um determinado grupo não pode prejudicar outro, porque isto seria uma ineficiência do sistema.

Por outro lado, a abordagem extra-welfarista permite a utilização de outros desfechos, rejeita o foco exclusivo na utilidade individual e o substitui por saúde, de forma mais ampla, incluindo outras dimensões para análise além da utilidade individual. Possibilita, ainda, a ponderação dos resultados de acordo com princípios que não precisam ser baseados em preferência e a realização de comparações interpessoais de bem-estar em diferentes dimensões indo além do critério econômico de Pareto<sup>23</sup>.

O ponto comum entre as duas concepções teóricas é que a avaliação econômica em saúde possibilita a comparação de diferentes intervenções em saúde utilizando-se de técnicas de análise de custos e seus resultados podem fornecer subsídios aos gestores para tomada de decisão.

Nos estudos econômicos é fundamental a definição da perspectiva da análise que será realizada, ou seja, a ótica em que serão analisados os custos ou a quem ele se dirige ou interessa. Esta é uma decisão que determina que tipos de custos e efeitos serão analisados e valorados. As perspectivas mais comumente utilizadas são as que consideram o ponto de vista do paciente e familiares, dos hospitais, do setor público, das seguradoras de saúde ou da sociedade e de cada uma delas deriva um efeito econômico diferenciado na apuração dos custos<sup>3</sup>.

### **2.2.1 Tipo de Análises**

Segundo o MS<sup>12</sup>, a avaliação das intervenções em saúde pode ser descrita em seis etapas: (1) demonstração da segurança do produto através de estudos experimentais e clínicos, (2) demonstração da eficácia da intervenção que consiste no resultado global que pode ser obtido quando aplicada em condições ideais, (3) avaliação da efetividade, ou seja, do efeito da intervenção quando utilizada na rotina diária, (4) avaliação da eficiência que considera a efetividade e os recursos necessários para sua implementação, (5) verificação da disponibilidade da intervenção para os usuários e (6) verificação da distribuição das tecnologias e prestação de serviços considerando quem ganha e quem perde na escolha de uma intervenção ou outra.

A análise de tecnologias em saúde nem sempre deve incorporar um estudo econômico. Produtos que comprovadamente possuem maior efetividade e menor custo global em relação a uma alternativa são mais eficientes e devem ser incorporados. No entanto, para produtos que tenham a mesma efetividade e diferente custo é indispensável a realização da avaliação econômica completa que consiste na avaliação dos desfechos em relação aos benefícios e custos para duas ou mais alternativas de intervenção. As análises comumente empregadas em avaliações econômicas completas em saúde são do tipo custo-efetividade, custo-utilidade, custo-minimização e custo-benefício. Todas avaliam os custos dos programas em unidades monetárias e diferem conforme o desfecho a ser medido e na forma como os benefícios são medidos e expressos<sup>24</sup>.

Outros tipos de análises econômicas, ditas parciais, também são importantes, pois, fornecem informações complementares sobre as tecnologias ou indicam os efeitos macroeconômicos da incorporação de nova tecnologia no sistema de saúde. Entre elas, destacam-se os estudos de custos da doença e os de impacto orçamentário.

#### 2.2.1.1 Análise de Custo-efetividade

A análise de custo-efetividade é a abordagem mais adotada para a avaliação dos benefícios das intervenções em saúde em uma condição ou serviço específico. Este tipo de análise compara os benefícios e os custos de duas ou mais intervenções que utilizam a mesma unidade de medida em determinada condição de saúde para atingir o mesmo objetivo. O objetivo é informar qual das opções representa um maior benefício e a qual custo incremental, ou seja, o custo adicional para atingir uma unidade extra de benefício clínico. Sua maior aplicabilidade na área da saúde é na comparação entre alternativas exclusivas que competem entre si e, portanto, não podem ser implementadas concomitantemente<sup>12,25</sup>. Um exemplo desta abordagem seria identificar qual é a melhor estratégia para alcançar a meta de cobertura universal do programa de vacinações, se vacinação de rotina, vacinação aprazada ou vacinação em massa, conforme os custos e a efetividade de cada uma<sup>26</sup>.

A realização de análises de custo-efetividade, em geral, abrange as seguintes etapas: definição e quantificação da meta; definição das diferentes estratégias alternativas para alcançar a meta; identificação e cálculo dos custos de cada estratégia; identificação e cálculo da efetividade de cada estratégia; análise do custo, da efetividade e da relação custo-efetividade de cada estratégia e por fim, análise de sensibilidade.

Na análise de custo-efetividade não se atribui valor monetário aos impactos das intervenções, ao invés disto, utiliza-se unidades naturais de desfechos como, por exemplo, anos de vida ganhos e mortes evitadas, sendo importante selecionar a unidade mais adequada à área e de maior impacto para a análise. Na avaliação das intervenções, o cálculo da razão de custo incremental de duas estratégias é a diferença entre o custo das duas intervenções dividida pela diferença das suas efetividades<sup>12,27</sup>.

As análises de custo-efetividade iniciam com a identificação dos processos mediante os quais os insumos se transformam em serviços de saúde. Uma vez quantificados esses insumos, passa-se à etapa da elaboração da função de custos na qual é calculado o custo dos insumos integrantes do processo produtivo de cada estratégia. Dessa forma, deve-se destacar que a técnica de apuração de custos incorporada nessas análises utiliza intensamente o método do rateio.

A análise de custo-efetividade apresenta algumas desvantagens, dentre as quais, a impossibilidade de comparar intervenções com unidades em diferentes escalas, como por exemplo, casos de câncer de mama detectados versus casos de sífilis evitados, e, de se avaliar desfechos primários e secundários simultaneamente.

#### 2.2.1.2 Análise de Custo-utilidade

Na análise de custo-utilidade, um tipo especial de custo-efetividade, os benefícios da intervenção são medidos em relação à qualidade de vida relacionada à saúde. Destinam-se a estudos que comparam diferentes tratamentos, em geral, para pacientes crônicos. A unidade de comparação é a relação custo/sobrevida, na qual a sobrevida é quantificada por uma unidade qualitativa Anos de Vida Ajustados por Qualidade (AVAQ), que leva em conta o tempo e a qualidade da sobrevida decorrente de distintos tipos de intervenção<sup>12,26</sup>.

Estudos de custo-utilidade racionalizam a questão relativa as doenças crônicas: considerando os recursos limitados e o alto custo do tratamento dessas doenças, qual é a alternativa que proporciona melhor e mais longa sobrevida a mais pacientes<sup>29</sup>? Um exemplo seria a comparação de cirurgia de revascularização do miocárdio e angioplastia como alternativa de tratamentos para pacientes com cardiopatia isquêmica considerando o custo do procedimento em relação ao seu impacto em termos de AVAQ's.

O objetivo consiste em valorar quanto cada benefício ganhou em termos de qualidade (AVAQ's) avaliada por instrumentos padronizados que medem estados de saúde em relação à preferência do indivíduo pelo estado de saúde propiciado por diferentes tecnologias em uma escala que varia entre saúde perfeita (1) e morte (0)<sup>28</sup>.



Feito o ajuste da qualidade, os pesos são multiplicados pelo tempo gasto em cada resultado e somados para fornecer o número de anos de vida ajustados pela qualidade. A análise é realizada através da diferença entre os custos dos tratamentos dividida pela diferença dos AVAQ's. Os resultados são expressos em termos de custo adicional por AVAQ's ganho para a intervenção e os recursos devem ser direcionados para as intervenções que envolvam o menor custo por razão de AVAQ's <sup>29</sup>.

Este tipo de avaliação é recomendado quando as intervenções têm um impacto na sobrevida do paciente ou quando aumentam a qualidade de vida sem alterar as condições de sobrevida. A principal vantagem deste tipo de análise consiste na utilização de um desfecho genérico que permite que se façam comparações entre diferentes condições e intervenções, facilitando a alocação de recursos com base na maximização dos ganhos em saúde.

#### 2.2.1.3 Análise de Custo-minimização

A análise de custo-minimização é realizada quando existem evidências de que as intervenções são igualmente efetivas, do ponto de vista clínico, necessitando apenas a comparação dos custos de cada intervenção para determinar a intervenção de menor custo.

A principal vantagem desta abordagem é a simplicidade, uma vez que reduz tempo e recursos em relação a uma avaliação econômica completa. Contudo, pode apresentar baixa precisão caso a avaliação de desfechos e de custos tenha sido feita para populações diferentes ou em períodos de tempo diferentes, como por exemplo, dados sobre a eficácia de um serviço coletados há cinco anos e na data atual não possuem o mesmo impacto sobre os desfechos<sup>11</sup>.

Estudos de custo-minimização são utilizados raramente porque exigem que diferentes intervenções apresentem a mesma efetividade clínica<sup>30</sup>.

#### 2.2.1.4 Análise de Custo-benefício

A análise de custo-benefício considera todos os aspectos da eficiência alocativa das intervenções e possibilita a comparação entre duas ou mais alternativas de intervenção avaliando os custos e os benefícios diretos e indiretos gerados em unidades monetárias e permitindo a comparação de resultados do estudo com os de outras intervenções. Os resultados gerados indicam se investir em uma estratégia específica apresenta ganho ou perda líquida e podem auxiliar os gestores a escolher entre vários programas ou estratégias dentro de um programa.

O conceito econômico subjacente é o do custo de oportunidade que representa o valor de um fator de produção aplicado a uma determinada escolha sendo o custo de oportunidade a renda líquida gerada pelo fator de produção em seu melhor uso alternativo. Por exemplo, o custo de oportunidade de um capital aplicado em um negócio é o valor que ele geraria em termos de remuneração em outra aplicação<sup>31</sup>.

Nas análises de custo-benefício, um valor monetário é atribuído aos benefícios ou impactos da intervenção em saúde e os resultados são apresentados em benefícios líquidos que consistem nos benefícios da intervenção subtraindo-se os custos da intervenção. As abordagens mais utilizadas para atribuir valor monetário nas análises de custo-benefício são o “capital humano” e *willingness-to-pay* (disposição-de-pagar). A abordagem do capital humano estima o valor presente de rendimentos futuros do indivíduo em condições saudáveis, ou seja, quantifica quanto o indivíduo deixa de produzir para a sociedade devido a agravos na saúde ou morte.

De acordo com a teoria do bem-estar, o benefício que um indivíduo recebe de um serviço é definido como a disposição máxima ou *willingness-to-pay* que ele está disposto a pagar por este serviço e o benefício para a sociedade é a soma da disposição de pagar de cada indivíduo. Desta forma, as condições e saúde são avaliadas pelo valor máximo que os indivíduos estão dispostos a pagar por uma intervenção que reduza as probabilidades de desfechos não desejados. A intervenção deve ser adotada se os benefícios excedem os custos, considerando as restrições orçamentárias<sup>32</sup>.

A escolha do tipo de avaliação econômica deve considerar adequação a estratégia que se vai avaliar, informações disponíveis tanto em bases de dados

primários como secundários, tempo e custos necessários para realização da análise e abordagens e estudos prévios realizados no tema.

### 2.2.1.5 Análise de Custos da Doença

Análises de custos da doença (*cost-of-illness studies*) consistem em um método descritivo para estimar o uso de recursos e os gastos a ele associados, sendo consideradas avaliações econômicas parciais tendo em vista que consideram somente os custos do uso da tecnologia, não abordando os efeitos na saúde do indivíduo como, por exemplo, segurança, eficácia e efetividade<sup>5</sup>.

Estes estudos combinam custos diretos, indiretos e intangíveis para estimar o impacto econômico de uma doença para a sociedade. Quando relacionados a dados epidemiológicos, estes estudos auxiliam na mensuração do impacto da doença para a sociedade e podem ser utilizados para identificar as doenças que mais comprometem o orçamento em saúde e orientar a alocação de recursos em políticas de cuidados e prevenção à saúde. Além da relevância para a saúde pública, a realização de estudos de custos em saúde é uma etapa importante para a realização de análises econômicas completas como estudos de custo-efetividade e custo-benefício, que comparam diferentes intervenções a fim de subsidiar a escolha da melhor delas<sup>7,33,34</sup>.

Os estudos de custo da doença em geral, abordam o contexto macroeconômico sob a perspectiva da sociedade ou do principal pagador, como o SUS e a SS no Brasil. A perspectiva da sociedade, por definição, é a mais abrangente porque considera todos os custos diretos, indiretos e intangíveis relacionados à intervenção e suas consequências, representando o interesse público geral<sup>35</sup>.

No entanto, a perspectiva da sociedade requer grande número de dados disponíveis o que por vezes, torna difícil a sua realização, como por exemplo, no estudo de doenças raras. Nos casos em que as fontes disponíveis de dados confiáveis provêm do terceiro pagador, a perspectiva a ser utilizada é a do principal pagador. É importante salientar que devido à gama de custos incluídos, a perspectiva da sociedade tende a gerar estimativas de custos mais elevados que em outras perspectivas.

O estudo de custo da doença pode ser relacionado com a incidência ou com a prevalência. Estudos baseados na incidência requerem conhecimento da progressão da doença e da utilização de cuidados, a cada ano, até a cura ou morte, bem como das probabilidades de cura e sobrevivência em cada período. Incluem honorários médicos, custos de morbidade e mortalidade para a coorte incidente. No método da prevalência se estima o custo total da doença incorrido em um período de tempo específico e incluem todos os custos de assistência médica e de morbidade da doença.

Algumas limitações dos estudos de custo de doença são que eles podem demonstrar quais doenças necessitam maior alocação de recursos de prevenção ou tratamento, mas não podem auxiliar na definição de como os recursos devem ser alocados porque não avaliam os benefícios. Além disso, os resultados desses estudos podem variar de acordo com a perspectiva, as fontes de dados, inclusão dos custos indiretos e o horizonte analítico e temporal para o qual os custos e as consequências serão contabilizados<sup>30,33,34</sup>.

Desta forma, a definição da perspectiva de abordagem do estudo considerando a disponibilidade e confiabilidades dos dados e o detalhamento dos métodos do estudo são fundamentais para que estudos de custos de doença tornem-se uma ferramenta analítica das políticas públicas em saúde.

## 2.3 CUSTOS EM SAÚDE

A análise de custos em saúde envolve a identificação, quantificação e valoração de todos os recursos usados nos cuidados de saúde. A justificativa fundamental da avaliação econômica é que os recursos são limitados em relação aos seus benefícios potenciais e para maximizar o bem-estar social, deve-se considerar todos os efeitos das decisões que afetam a alocação de recursos de forma direta ou indireta<sup>35</sup>.

Na estimativa dos custos, alguns conceitos e fatores econômicos devem ser considerados nas análises, tais como custo contábil, econômico e de oportunidade, preços de mercado, inflação, desconto e depreciação.

O custo contábil é voltado às informações relativas à posição financeira e patrimonial da empresa enquanto que o custo econômico considera o custo contábil acrescido do custo de oportunidade. O custo de oportunidade expressa o valor do benefício que poderia ser obtido através da aplicação de recursos na segunda melhor alternativa. O custo de oportunidade é o verdadeiro custo em que a sociedade incorre quando um determinado programa de saúde é incorporado ao sistema, na medida em que os recursos humanos e materiais empregues nesse programa ficam indisponíveis para outros fins. Representa o valor do custo econômico real de um recurso utilizado para a realização de uma intervenção<sup>16,35,38</sup>.

O preço de mercado ou valor cobrado por um serviço não necessariamente reflete o custo real da intervenção. Assim, é recomendado que sempre que possível seja utilizada a estimativa mais próxima do custo real com valores expressos em uma moeda estável e em um ano específico. Quando os dados abrangem anos diferentes, os custos devem ser ajustados ou valorados em determinado ponto no tempo, ou seja, padronizados. Em estudos retrospectivos, os custos devem ser corrigidos para inflação com a utilização de índice de correção específico para cada ano. Se os custos abrangem despesas ou economias futuras deve-se aplicar a taxa de desconto (*discounting*) tendo em vista que existe um valor temporal associado ao dinheiro, ou seja, as pessoas preferem receber hoje ao invés de no futuro, assim, o valor recebido hoje vale mais do que a mesma quantia recebida numa data posterior. A taxa de desconto geralmente aceita para intervenções em saúde situa-se na faixa de 3% a 5%, podendo variar de 0% a 10% nas análises de sensibilidade<sup>3,35</sup>.

Nas avaliações econômicas em saúde, os custos são expressos em termos monetários e apresentam-se em três categorias: diretos, indiretos e intangíveis. Estudos detalhados de custo de doença incluem custos diretos e indiretos, embora a perspectiva do estudo possa tornar um ou outro desnecessário. Resumidamente, os custos diretos medem o custo de oportunidade dos recursos utilizados para o tratamento de uma doença em particular, enquanto que os custos indiretos avaliam o valor dos recursos perdidos em função da doença. Os custos intangíveis representam a alteração na qualidade de vida do indivíduo e as consequências da doença em si, como a dor e o sofrimento, sob a forma de medidas de qualidade de vida.

Dependendo do objetivo, os custos podem ser classificados de várias maneiras, sendo que, destacamos as duas consideradas mais importantes neste

estudo. Em relação ao volume de produção, os custos apresentam-se em fixos que são aqueles cujo valor não se altera quando se modifica o volume produzido, em determinado período de tempo e em certa capacidade instalada ou como variáveis, cujo valor se altera na mesma proporção da alteração no volume de produção.

Em relação a sua aplicabilidade, os custos podem ser diretos ou indiretos. Custos diretos são aqueles diretamente incluídos no cálculo dos produtos ou serviços, apresentam a propriedade de serem mensuráveis de forma objetiva, exigindo para isso uma medida de consumo. Custos indiretos são aqueles que não se identificam diretamente dependendo de critério de alocação para serem associados ao produto. Custos operacionais se relacionam aos recursos consumidos na atividade fim <sup>35,36,37</sup>.

Os custos diretos podem ser categorizados em médicos (sanitários) e não médicos (não sanitários). Os custos médicos são gerados pela utilização dos serviços de saúde, como as diárias hospitalares, honorários médicos, medicamentos e exames diagnósticos. Os custos não médicos refletem a utilização dos recursos não relacionados à saúde, gerados por consequência da condição e intervenção realizada como, por exemplo, transporte para a unidade de saúde, adaptações domiciliares e em veículos relacionadas à condição de saúde<sup>35</sup>.

Os custos indiretos são associados com a perda de produtividade econômica em função da morbidade e da mortalidade. Os principais custos indiretos se relacionam com o tempo que o paciente despende para o tratamento, custo associado com familiares ou cuidadores e outros custos associados com doenças como absenteísmo, aposentadorias, pensões precoces e perda de rendimentos.

### **2.3.1 Estimativas de Custos**

Na literatura, encontramos dois métodos para estimar os custos diretos das doenças. O primeiro, conhecido como abordagem de cima para baixo (*top-down approach*) avalia os custos na forma agregada por doença específica através de dados secundários de gastos totais em saúde e das taxas de utilização dos serviços

de saúde para determinar a estimativa de custo da doença específica. Os custos são calculados pela multiplicação do gasto total com saúde pela proporção de serviços utilizados pelo grupo de casos. O segundo método, abordagem de baixo para cima (*bottom-up approach*) utiliza dados primários e parte dos custos individuais coletados para extrapolação para a população. Os custos são calculados pela multiplicação do custo médio do serviço prestado pelo número total de procedimentos realizados e atribuídos à população em questão<sup>39</sup>.

Para estimativa dos custos indiretos, ou seja, aqueles relacionados à perda de produtividade, os métodos usualmente utilizados são o do capital humano (*human capital approach*) o de fricção de custos (*friction costs method*). A abordagem do capital humano estima a produção perdida (rendimentos brutos) como as habilidades, as experiências e o conhecimento do indivíduo utilizados no processo produtivo. O método de fricção de custos representa o custo associado à reposição do trabalhador doente, ou seja, abrange o custo incorrido entre a saída do trabalhador até o momento da sua substituição. O custo de fricção tem relação direta com o tempo em que a organização restaura sua produção. Existem diversas controvérsias sobre estimativas de custos indiretos, em geral, porque dependendo do método adotado, os custos pode ser superestimados<sup>39,40,41</sup>.

### **2.3.2 Métodos de Custeio**

Os métodos de custeio definem como deve ser realizada a alocação dos custos dos produtos e podem ter objetivos legais e gerenciais. Alguns métodos de custeio utilizados na área da saúde são o método de custeio por absorção e o custeio baseado em atividade (*Activity-Based Costing - ABC*).

O método de custeio por absorção, também denominado de custeio integral, consiste em apropriar todos os custos incorridos na produção aos bens ou serviços produzidos. Inicialmente, classifica-se os custos em indiretos e diretos, os quais são absorvidos pelos produtos durante o processo de produção. Neste método, a divisão funcional da empresa é realizada em centros de custos ou centros de resultados nos casos em que geram receita. Algumas características dos centros de custos consistem no fato deles serem uma unidade de produção autônoma, com área de abrangência delimitada e geradores de custos. Centros de custos de apoio possuem

uma unidade de rateio definida e utilizada para a distribuição de custos na estrutura funcional. Este método é o único aceito pela legislação brasileira e o mais utilizado na área hospitalar <sup>36</sup>.

Do método de custeio por absorção derivam-se o custeio por procedimento e o custeio por patologia ou paciente. O custeio por procedimento compreende todos os insumos utilizados pelo paciente durante a assistência médica. As informações dos custos por procedimentos hospitalares representam a combinação dos custos incorridos na estrutura funcional e a forma como são utilizados na assistência aos pacientes. O custeio por patologia ou paciente envolve todos os custos do tratamento das enfermidades. Esse método exige um bom sistema de custeio por absorção e procedimento e a integração desse sistema por intermédio de códigos unificados de enfermidade e procedimentos<sup>42</sup>.

O custeio baseado em atividade (ABC) identifica as atividades necessárias ao processo de elaboração dos serviços, custeando tais atividades e, por consequência, gerando os custos do serviço. Este método possui como principal característica a transformação do maior número de custos indiretos em diretos, calculando-os a partir das atividades desenvolvidas na instituição. Para isto, o sistema propõe o uso de “direcionadores de custos” (*costdrivers*) que são utilizados para vincular os custos das atividades ao produto ou serviço produzido, apropriando de forma mais exata possível todos os custos e reduzindo o número de atividades que não agregam valor ao produto. Para atribuir os custos das atividades aos produtos, utilizam-se os direcionadores de atividades que estabelecem a relação entre as atividades e os produtos<sup>35,42,43</sup>.

Apesar das potenciais contribuições ao desenvolvimento da área de custos em saúde e sua aplicabilidade na gestão estratégica de custos, o método ABC é pouco utilizado pelos hospitais públicos brasileiros.



## REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. World Health Statistics. World Health Statistics 2015: *part II global health indicators*. Genebra, 2015. [acesso em 2016 jan. 12]. Disponível em: <http://www.who.int/gho/publications>
2. Piola SF, Vianna SM. Estado de uma nação: textos de apoio. Saúde no Brasil: algumas questões sobre o Sistema Único de Saúde (SUS). Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2009. Texto para discussão n° 1391.
3. Ministério da Saúde. Avaliação Econômica em Saúde: desafios para Gestão no Sistema Único de Saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2008.
- 4 Bech M, Christiansen T, Dunham K, Lauridsen J, Lyttkens CH, McDonald K, et al. The influence of economic incentives and regulatory factors on the adoption of treatment Technologies: A case study of Technologies used to treat heart attacks. *Health Econ.* 2009;(18):1114-1132.
5. Ministério da Saúde. Glossário temático: economia da saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006.
6. Del Nero CR. O que é economia da saúde. In: Piola SF, Vianna SM. Economia da saúde: conceitos e contribuição para a gestão da saúde. 3. ed. Brasília: IPEA, 2002. Capítulo I p. 5-23.
7. Oliveira ML, Santos LMP, Silva EM. Bases metodológicas para estudos de custos da doença no Brasil. *Rev. Nutr. Campinas*, 2014 set./out.;27(5):585-595.
8. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: estudos de avaliação econômica de tecnologias em saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2009.
9. Presidência da República. Lei nº 12.401, de 28 de abril de 2011. Altera a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a Assistência Terapêutica e a Incorporação de Tecnologia em Saúde no Âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). [acesso em 2016 jan. 17]. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/ Ato2011-2014/2011/Lei/L12401.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ Ato2011-2014/2011/Lei/L12401.htm)

10. Robbins L. An essay on the nature and significance of economic science. 2. ed. London: Macmillan and Co. Limited, 1945.
11. Byford S, Mcdaid D, Sefton T. Because it's worth it: a practical guide to conducting economic evaluations in the social welfare field. 1. ed. 2003. [acesso em 2016 jan. 12]. Disponível em: [www.yps-publishing.co.uk](http://www.yps-publishing.co.uk)
12. Ministério da Saúde, Secretaria-Executiva. Área de Economia da Saúde e Desenvolvimento. Avaliação econômica em saúde: desafios para gestão no Sistema Único de Saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2008.
13. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Medical Technologies Evaluation Programme, Methods guide. April, 2011; p. 1-32.
14. Menon D, Stafinski T. Health technology assessment in Canada: 20 years strong? Value in Health, 2009, 12(S2).
15. Ministério da Saúde, Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Consolidação da área de avaliação de tecnologias em saúde no Brasil. Rev Saúde Pública, 2010;44(2):381-383.
16. Drummond MF, Sculpher MJ, Torrance GW, O'Brien BJ, Stoddart GL. Methods for the economic evaluation of health care programmes. New York: Oxford University Press; 2005.
17. Soárez PC. Uso de modelos de análise de decisão nos programas de vacinação contra varicela. [Tese de doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Preventiva, 2009.
18. Hailey D. Elements of effectiveness for health technology assessment programs. HTA Initiative. Alberta Heritage Foundation for Medical Research, 2003; (9):1-41.
19. Guidelines for the economic evaluation of health technologies. 3. ed. Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2006.
20. Mitton C, Donaldson C. Health care priority setting: principles, practice and challenges. Cost Effectiveness and Resource Allocation, 2004;( 2):3.
21. Sousa LG de. Economia do bem-estar. Observatorio de la Economía Latinoamericana, 2011;(158). [acesso em 2016 jan. 20]. Disponível em: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/br>

22. Brouwer WBF, Culyer AJ, Van Exel NJA, Rutten FFH. Welfarism vs. extra-welfarism. *Journal of Health Economics*, 2008;27(2): 325-338.
23. Sancho LG, Dain S. Avaliação em saúde e avaliação econômica em saúde: introdução ao debate sobre seus pontos de interseção. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2012;17(3):765-774.
24. Ribeiro RA, Cruz LN, Polanczyk CA. Avaliação crítica de estudos de custo-efetividade. In: Nita ME, Secoli SR, Nobre MRC, Ono-Nita SK, Campino ACC, Santi FM, et al. *Avaliação de tecnologias em saúde: evidência clínica, análise econômica e análise de decisão*. Porto Alegre: Artmed; 2010. p. 402-418.
25. Muenning P, *Cost-effectiveness Analyses in Health: a practical approach*. 2. ed. San Francisco: [s.n], 2008.
26. Ugá MAD. Instrumentos de avaliação econômica dos serviços de saúde: alcances e limitações. In: Piola SF, Vianna SM. *Economia da saúde: conceito e contribuição para a gestão da saúde*. 3. ed. Brasília: [s.n.], 2002. Cap. IX.
27. Valentim, J. *Avaliações econômicas de programas de vacinação: as estimativas de custos em intervenções preventivas*. [Tese de doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Preventiva, 2009.
28. Silva LK. *Avaliação tecnológica e análise custo-efetividade em saúde: a incorporação de tecnologias e a produção de diretrizes clínicas para o SUS*. *Ciênc. Saúde Coletiva*, 2003;8(2):501-520.
29. Campolina AG, Ciconelli RM. Qualidade de vida e medidas de utilidade: parâmetros clínicos para as tomadas de decisão em saúde. *Rev Panam Salud Publica*, 2006;19(2):128-136. ISSN 1020-4989
30. Vanni T, Luz PM, Ribeiro RA, Novaes HMD, Polanczyk CA. Avaliação econômica em saúde: aplicações em doenças infecciosas. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 2009 dez.;25(12):2543-2552.
31. Pereira AC, Souza BF, Redaelli DR, Imoniana JO. Custos de oportunidade: conceitos e contabilização. *Caderno de Estudos nº 02*. São Paulo: FIEPECAFI, 1990.
32. Balbinotto Neto G. *Análise de custo benefício*. 2008. [acesso em: 2016 jan. 14]. Disponível em: <http://www.ppge.ufrgs.br/giacomo/arquivos/finpub/aula7.pdf>

33. Segel JE. Cost-of-Illness studies: a primer. [s.l.]: RTI International. RTI-UNC Center of Excellence in Health Promotion Economics, 2006.

34. Garcia MM. Custo da doença e perfil dos pacientes com psoríase moderada a grave atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. [Tese de doutorado]. Paraná: Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, 2013.

35. Balbinotto Neto G, Garcia RL. Economia da saúde: introdução à farmacoeconomia. [Notas de aula do Curso de Extensão em ATS, Aulas 1-7]. [acesso em: 2016 jan. 08]. Disponível em: <http://www.ppge.ufrgs.br/giacomo/arquivos/farmaco/aula1ats.pdf>

36. Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde. Introdução à gestão de custos em saúde. Série Gestão e Economia da Saúde v. 2. Brasília, 2013.

37. Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais. Do planejamento ao resultado, 2009. [acesso em: 2016 jan. 10]. Disponível em: <http://www.fhemig.mg.gov.br/pt/publicacoes/pecas-graficas>

38. Pinto MP, Ugá MAD. Os custos de doenças tabaco-relacionadas para o Sistema Único de Saúde. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2010 jun.; 26(6):1234-1245.

39. Vianna DA. Custos e gerenciamento de doenças. [acesso em: 2016 jan. 07]. Disponível em: [http://www.iats.com.br/eng/download/Temas\\_Importantes\\_na\\_Sa%FAde.pdf](http://www.iats.com.br/eng/download/Temas_Importantes_na_Sa%FAde.pdf).

40. Sancho LG. Revisando a literatura sobre custo-efetividade e utilidade em saúde. Cad. Saúde Pública, 2008 dez.; 24(12):2735-2746.

41. Ferreira LNN. Avaliação econômica no sector da saúde. [acesso em: 2016 jan. 07]. Disponível em: <http://www.dosalgarves.com/revistas/N13/7rev13.pdf>

42. Ugá MAD, Porto S. Apuração de custos hospitalares. In: Pinto MFT. Custos de doenças tabaco - relacionadas: uma análise sob a perspectiva da economia e da epidemiologia. [Tese de doutorado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, 2007.

43. Rocha Filho FS. Análise de custos e produtividade de equipes do Programa de Saúde da Família em Fortaleza-Ceará em 2004. [Dissertação de mestrado]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2005.

**ARTIGO 1:****Estimativa dos custos diretos da cardiopatia isquêmica: estudo de coorte retrospectivo**

Rosane Paixão Schlatter<sup>1,4,5</sup>

Carisi Anne Polanczyk<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Cardiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Serviço de Cardiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina, Departamento de Cardiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Avaliação de Tecnologias em Saúde, CNPq, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>5</sup> Grupo de Pesquisa e Pós-graduação, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente: Rosane P Schlatter. Programa de Pós-graduação em Cardiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350, CEP 90035-903 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: [rschlatter@hcpa.edu.br](mailto:rschlatter@hcpa.edu.br)

## RESUMO

**Objetivo:** Estimar os custos diretos do manejo de pacientes com cardiopatia isquêmica na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil. **Métodos:** Estudo de coorte retrospectivo com identificação e valoração de recursos utilizados, tanto em nível ambulatorial quanto em hospitalar, em uma amostra de 330 pacientes, selecionados do ambulatório de cardiopatia isquêmica de hospital universitário. Os dados do estudo foram coletados usando a ferramenta de captura de dados eletrônicos REDCap e através do prontuário informatizado do hospital. Os prontuários de todos os pacientes foram revisados no período de janeiro de 2000 a outubro de 2015. Os recursos foram valorados em Reais para o ano de 2015 e os valores de contas hospitalares foram ajustados para inflação quando faturados em anos anteriores ao da análise. Foram realizadas análise bivariada e regressão logística binária e  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Os dados foram analisados no programa SPSS versão 20. **Resultados:** A população em estudo consistiu em 330 pacientes com período de seguimento de  $107 \pm 2,6$  meses, idade média de  $61 \pm 10$  anos, 55% do sexo masculino, 89% hipertensos, 48% diabéticos e 65% com infarto agudo do miocárdio prévio. O custo médio anual do manejo clínico por paciente foi R\$ \$ 5.478 para o SUS. Na internação, o custo médio por internação foi R\$ R\$ 7.114 sendo que os custos foram mais elevados no primeiro e nos últimos anos de seguimentos. Angina instável, angioplastia cirurgia de revascularização, diabetes, hipertensão e obesidade foram preditores de maiores custos na internação ( $p < 0,05$ ). **Conclusão:** As estimativas de custos neste estudo indicam elevada proporção de custos do tratamento farmacológico e das diárias de internação no tratamento da cardiopatia isquêmica. Mostram, ainda, que os custos de tratamento são mais elevados no primeiro ano e ao final do tratamento e os fatores clínicos associados aos maiores custos no tratamento hospitalar. Estes resultados podem servir como base para a avaliação das políticas públicas existentes e para subsidiar futuros estudos de custo-efetividade em DAC.

**Palavras-chave:** Custos diretos. Insuficiência cardíaca. Avaliação econômica.

## Introdução

As doenças cardiovasculares foram responsáveis por 46,2% dos óbitos de doenças crônicas não transmissíveis e por 37% dos óbitos em pessoas com idade inferior a 70 anos no mundo em 2012<sup>1</sup>. No Brasil, apesar de redução no número de óbitos desde a década de 1990, as doenças cardiovasculares responderam por 28% dos óbitos em 2013 e pelo maior gasto do Sistema Único de Saúde com internações em 2009<sup>2,3,4</sup>.

Dentre as doenças cardiovasculares, a doença arterial coronariana (DAC) é a de maior prevalência. Nos Estados Unidos, estima-se que 7% dos adultos com idade superior a 20 anos tenham diagnóstico de doença arterial coronariana e que até 2030 ocorra um aumento nesse indicador<sup>5</sup>. No Brasil estimou-se prevalência de 5 a 8% em adultos com idade superior a 40 anos<sup>6</sup> e elevado número de hospitalizações associados tanto às manifestações clínicas estáveis quanto às agudas<sup>6,7</sup>.

Os custos em saúde vêm aumentando desde a década de 1980 principalmente, em função da incorporação de novas tecnologias e de transições demográficas e epidemiológicas das populações. No Brasil, os gastos com saúde quadruplicaram na última década atingindo R\$ 450 bilhões em 2013, dos quais 44% foram custeados pela saúde pública e 56% pelo setor privado<sup>8</sup>. As tecnologias em saúde incluem:

Medicamentos, equipamentos e procedimentos técnicos, sistemas organizacionais, educacionais, de informação e de suporte e os programas e protocolos assistenciais, por meio dos quais a atenção e os cuidados com a saúde são prestados à população<sup>8</sup>.

Característica própria das tecnologias em saúde é o caráter complementar ou cumulativo, ou seja, a nova tecnologia não substitui a anterior e sim, é utilizada concomitantemente, o que contribui para o aumento dos custos em saúde.

O aumento dos gastos com a saúde, a necessidade de equilibrar os orçamentos públicos e buscar a eficiência na alocação dos recursos atendendo às demandas sociais em sua totalidade tem impulsionado o crescimento de estudos de avaliações econômicas para auxílio no processo de tomada de decisão em relação às novas tecnologias.

Estudos de custos da doença são importantes na medida em que fornecem uma linha basal para avaliações econômicas completas como, por exemplo, estudos de custo-efetividade. Identificar custos envolve planejamento adequado da coleta de dados a fim de que a informação gerada possa ser utilizada como subsídio em estudos futuros. Neste contexto, este estudo teve como objetivo estimar os custos diretos associados ao tratamento da cardiopatia isquêmica em nível ambulatorial e hospitalar em uma instituição pública de saúde, na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS).

## **Métodos**

Estudo de coorte retrospectivo, para identificação e valoração do uso de recursos, em pacientes acompanhados no ambulatório de cardiopatia isquêmica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de janeiro de 2000 a outubro de 2015.

Os critérios de inclusão neste estudo consistiram em pacientes com seguimento ambulatorial igual ou superior a um ano e com um número mínimo de 3 consultas realizadas a partir de janeiro de 2009. Dos 633 pacientes acompanhados no ambulatório de cardiopatia isquêmica, 330 preencheram os critérios de inclusão e foram incluídos no estudo.



## Coleta de dados

Foram desenvolvidos, no REDCap<sup>9</sup>, os formulários para a coleta de dados retrospectiva relacionada às informações clínicas do protocolo de atendimento ambulatorial com informações sobre fatores de risco para DAC, história médica pregressa e atual, avaliação física e medicação em uso. Foram solicitados relatórios informatizados, elaborados a partir do Aplicativo de Gestão Hospitalar (AGH) que contém a base de dados do prontuário eletrônico do hospital, para a coleta dos dados de internações, procedimentos e exames realizados no período de seguimento. O levantamento do uso de recursos foi realizado, separadamente, para o tratamento ambulatorial e a internação.

No formulário de avaliação clínica foram registradas as informações relativas à: (a) classe funcional CCS, (b) diagnósticos prévios de angina instável, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca congestiva e valvulopatias, (c) fatores de risco: diabete melito, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, tabagismo ativo, tabagismo passado, atividade física, dieta e ingestão de álcool, (d) medicação em uso e (e) exame físico: peso, altura, pressão sistólica e diastólica e frequência cardíaca.

## Quantificação de recursos

No tratamento ambulatorial foram quantificadas as consultas médicas, exames solicitados, procedimentos de cateterismo ambulatorial, medicamentos em uso e transporte do paciente ao hospital. As consultas médicas são identificadas no AGH contendo o nome do ambulatório e responsável médico da equipe e foram consideradas somente as realizadas no ambulatório de cardiopatia isquêmica registrando-se o somatório do número de consultas realizada por paciente.

Os medicamentos em uso considerados neste estudo foram: Ácido Acetil Salicílico, Alopurinol, Amiodarona, Anlodipino, Atenolol, Atorvastatina, Benazepril, Captopril, Clopidogrel, Digoxina, Diltiazem, Enalapril, Furosemida, Hidroclortiazida, Glibenclamida Isossorbida, Losartana, Lovastatina, Metformina, Metoprolol, Nifedipina, Omeprazol, Paracetamol, Pravastatina, Propranolol, Sinvastatina, Sustrate, Warfarina e Verapamil, todos coletados em mg/dia. Considerou-se que os medicamentos foram adquiridos pelos pacientes em farmácias, com recursos próprios, sem subsídios governamentais e adesão de 100% ao tratamento.

Exames laboratoriais abrangeram Alanina Aminotransferase (TGP), Albuminúria, Aspartato Aminotransferase (TGO), Cálcio Total, CK, CK-MB, Colesterol HDL, Colesterol LDL, Colesterol Total, Creatinina, Curva Glicêmica, EQU, EQU sedimento, Fósforo, Glicose, Hemoglobina Glicada, Potássio, Proteína C Reativa, Tireotrofina, Triglicerídios e Ureia.

Os exames cardiológicos e de imagem considerados incluíram: Cintilografia do Miocárdio (de esforço e em repouso), Ecocardiograma de Estresse, Eletrocardiograma em Repouso, Ergometria, Holter, Monitorização Ambulatorial de

Pressão Arterial, Raio-X de Tórax AP, Ecodoppler de Carótida e Vertebral, Ecodoppler a cores de Veias e Tomografia de Tórax.

No tratamento hospitalar foram quantificadas as diárias de internação, diárias de UTI, exames laboratoriais e de diagnóstico e procedimentos de angioplastia com e sem implante de endoprótese, cateterismo cardíaco, cirurgia de revascularização do miocárdio e outros procedimentos realizados no período de internação.

Nas hospitalizações foram avaliadas três informações: o código da doença, o código do tratamento cobrado na conta hospitalar e a especialidade responsável pela internação. Foram incluídas no estudo as internações com Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) relacionadas ao Capítulo IX - Doenças do Aparelho Circulatório (I00 a I99), Capítulo XVIII - Sintomas, sinais e achados anormais de exames clínicos e de laboratório, não classificados em outra (R00, R07-4, R53, R55), Septicemia não especificada (A41.9), Diabetes Mellitus não especificado (E14), Acidentes vasculares cerebrais isquêmicos transitórios e síndromes correlatas (G45), Complicações de dispositivos protéticos, implantes e enxertos cardíacos e vasculares (T82.0 a T82.9), Colocação e ajustamento de outros aparelhos de prótese externa (Z44.8) e Presença de implantes e enxertos cardíacos e vasculares (Z95.0 a Z95.9).

Foram definidos como eventos maiores, os óbitos, as internações e cirurgia de revascularização do miocárdio.

## Valoração dos Recursos

O estudo foi realizado na perspectiva do Sistema Único de Saúde utilizando o sistema de remuneração do SUS para a estimativa dos custos públicos. Os custos de consultas e exames foram calculados através do produto entre quantidade e preço unitário de cada recurso utilizado na tabela do SUS.

Para o tratamento farmacológico, foi realizada pesquisa de preços dos medicamentos na mesma forma de apresentação em três redes farmacêuticas e calculado o preço médio entre eles. Para as despesas com transporte do paciente foi utilizado o preço da passagem de transporte público terrestre vigente em outubro de 2015, considerando 2 passagens para residentes em Porto Alegre e 4 passagens para residentes na Região Metropolitana, no interior do Estado e em outros Estados.

Para os custos de internação foram utilizados os valores pagos na Autorização de Internação Hospitalar (AIH) do Sistema Único de Saúde, atualizados para inflação pelo Índice Nacional de Preços Amplo (IPCA)<sup>10</sup> considerando como data inicial o mês de encerramento da conta hospitalar e final, o mês de outubro de 2015. Foram considerados neste estudo, somente os custos diretos.

O custo total de cada paciente englobou o manejo ambulatorial e a internação e foi dividido pelo período de seguimento, obtendo-se o custo médio anual por indivíduo. Os custos foram expressos como valores medianos em reais. Para as estimativas de custos anuais de internação por paciente foram realizadas análises para identificação dos potenciais preditores clínicos de maior custo em relação aos fatores: sexo, idade, classe funcional Canadian Cardiovascular Society (CCS), acidente vascular cerebral, angina instável, cirurgia de revascularização do miocárdio,

infarto do miocárdio, diabetes melito, dislipidemia, hipertensão, índice de massa corporal, tabagismo ativo e passado.

### Análises Estatísticas

Para variáveis categóricas, os dados descritivos estão apresentados em frequências absolutas e relativas; e para variáveis contínuas como média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil (percentil 25 e 75). Para avaliar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os custos estão apresentados em média e mediana. As variáveis de custos foram comparadas em relação aos preditores clínicos com teste de Mann-Whitney por apresentarem distribuição não normal mesmo após a transformação logarítmica (análise bivariada). Após, foi realizada análise de modelos lineares generalizados (GLM) para avaliar os preditores independentes do custo anual por paciente. Foi realizada regressão logística binária para estimar as probabilidades de eventos maiores e estabelecer a relação com os custos estimados. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Para a estimativa do escore foi utilizada a razão de custos para os fatores de risco significativos e então, calculadas as probabilidades individuais em relação à presença de eventos maiores.

### Resultados

Foram avaliados 633 pacientes, dos quais 330 atenderam os critérios de inclusão e foram incluídos no estudo. Nesta amostra, 54,8% eram do sexo masculino, 51,8% residentes em Porto Alegre, a idade média foi 61 anos e o tempo médio de

seguimento no ambulatório de cardiopatia isquêmica foi  $107,38 \pm 2,62$  meses. Pacientes com Classe Funcional CCS I representaram 73% da amostra e classe CCS II, 20,6%. No período do seguimento ocorreram 31 óbitos (9,4%), dos quais 5 foram relacionados às doenças concomitantes de neoplasias malignas. As características basais da amostra são apresentadas na Tabela 1.

O consumo de recursos ambulatoriais no período do seguimento consistiu em 9.264 consultas, 71.114 exames laboratoriais, 5.697 exames diagnósticos e 416 cateterismos ambulatoriais. Em média, foram realizadas 28,1 (mediana 28 e desvio padrão 13,11) consultas e 2,05 cateterismos (mediana 2 e desvio padrão 1,44) por paciente. Os custos de deslocamento dos pacientes de ida e volta da residência ao hospital totalizaram R\$ 172.638 no período. Os pacientes utilizaram em média 6 medicamentos por dia, que representaram um custo médio de R\$ 22.225 (mediana R\$ 19.868) e total de R\$ 7.334.272 no período. Os valores unitários que compuseram os custos estão apresentados na Tabela 2.

O custo total ambulatorial no período de seguimento foi de R\$ 8.758.562 (Tabela 3) com custo anual médio por paciente de R\$ 3.076 (mediana R\$ 2.754). Os maiores direcionadores de custos ambulatoriais foram representados pelo tratamento farmacológico, 81% no SUS e exames de imagem, 6,7%.

Na estimativa dos custos totais com internação durante o período de acompanhamento, o custo médio foi R\$ 21.9771 (mediana R\$ 14.710) para o SUS no período, gerando um custo médio por internação de R\$ 7.114 (mediana R\$ 6.157) (Tabela 4).

No total de procedimentos realizados na internação, cateterismos responderam por 33,4% (n=186), angioplastias por 52,9% (n=294) e cirurgias de revascularização do miocárdio por 12% (n=66). Foram realizados em média no período de seguimento,

102 exames laboratoriais (mediana 52) e 11 (mediana 7) exames de imagem por paciente internado. No total, foram realizados 26.092 exames laboratoriais e 2.484 exames de imagem no período do seguimento.

A análise do custo total para o SUS mostra que os gastos mais elevados ocorrem no primeiro ano do seguimento com média R\$ 10.313 por internação e mediana R\$ 10.075, ocorrendo neste período o maior número de internações (Figura 1).

Considerando os custos ambulatoriais e de internação, os custos totais estimados foram de R\$ 14.274.820 para o SUS com custo médio anual por paciente de R\$ 5.478 e mediana R\$ 4.382 (Tabela 5). Neste estudo, os custos de internação representaram 38,6% do custo total do manejo da cardiopatia isquêmica no SUS e os custos ambulatoriais, 61,4%. O maior direcionador de custos, 51,4% no SUS foi as despesas com medicamentos, seguido pelas diárias hospitalares (Figura 2).

Na avaliação dos fatores direcionadores de maiores custos anuais por paciente na internação encontrou-se significância estatística para angina instável, angioplastia, cirurgia de revascularização do miocárdio prévia, diabetes melito, hipertensão arterial sistêmica e obesidade. Sexo masculino e idade apresentaram associação com maiores custos na internação, mas, após ajuste multivariado (GLM) não se mantiveram (Tabela 6).

Por tratar-se de ambulatório especializado e uma coorte com 10 anos de seguimento, 76,7% dos pacientes apresentaram algum evento no período. Foi realizada a estimativa do custo total para o SUS em relação à probabilidade da ocorrência de eventos maiores (internação, óbitos e cirurgia de revascularização do miocárdio) e a estimativa do custo anual por paciente considerando a presença de

fatores de risco significativos na análise bivariada. Os resultados são apresentados nas Figuras 3 e 4.

## **Discussão**

Os resultados representam dados contemporâneos do tratamento ambulatorial e hospitalar de pacientes que possuem acompanhamento clínico no ambulatório de cardiopatia isquêmica em hospital público universitário.

Na estimativa dos custos, alguns fatores econômicos devem ser considerados nas análises, tais como preços de mercado, inflação, depreciação de bens e custo de oportunidade<sup>11</sup>. Por tratar-se de uma coorte com dez anos de seguimento, os valores recebidos em anos anteriores ao da análise, foram atualizados para inflação. Para a estimativa de custos foram utilizadas as tabelas de preço praticadas pelo SUS. Estes preços não refletem os custos reais da intervenção e sim, o valor mais próximo, podendo ser considerados como o custo de oportunidade de cada sistema, considerado por alguns autores como a representação do valor do custo econômico real de um recurso utilizado para a realização de uma intervenção<sup>12,13</sup>.

Apesar de escassos na literatura nacional, alguns estudos prévios descreveram custos do manejo de pacientes com doença cardiovascular. Para fins de comparação dos achados, os resultados de estudos anteriores a 2015 foram atualizados para inflação e são apresentados neste formato.

O custo médio anual ambulatorial por paciente no SUS foi R\$ 3.076 (mediana R\$ 2.754) foi semelhante ao relatado por Ribeiro *et al*<sup>14</sup> em estudo realizado no ano de 2002, com gasto anual médio por paciente de R\$ 2.805 (mediana R\$ 2.737) com



a mesma coorte de pacientes e por Azambuja *et al*<sup>15</sup>, que estimou custo médio anual de R\$ 3.151 para casos de doença cardiovascular grave.

Na composição dos custos ambulatoriais, os gastos com o tratamento farmacológico foram responsáveis pelo maior dispêndio. Em relação ao custo médio anual com medicamentos, a amostra estudada apresentou valores semelhantes aos encontrados na literatura: R\$ 2.987 por Araújo *et al*<sup>16</sup> em estudo da insuficiência cardíaca. A proporção deste gasto no custo total do ambulatório, 81% no SUS foi maior que a encontrada por Ribeiro *et al*<sup>14</sup>, 80% no SUS. Esse achado é coerente com a realidade brasileira na área da saúde e pode ser reflexo da entrada de novos fármacos no mercado com preços mais elevados, do aumento de doenças cardiovasculares concomitantes e da inflação acumulada dos preços. O fato deste estudo ter considerado o paciente como o provedor das despesas farmacológicas e a adesão medicamentos de 100% pode gerar superdimensionamento dos custos totais, uma vez que os fármacos para hipertensão, diabetes e dislipidemia possuem fornecimento gratuito nas Unidades da Atenção Primária para usuários públicos ou subsídios governamentais para aquisição através do Programa Farmácia Popular para usuários privados, como parte da Política Nacional de Assistência Farmacêutica<sup>17</sup> contudo, neste estudo não foi verificada a acessibilidade dos pacientes ao Programa. Tavares *et al*<sup>18</sup> verificaram prevalência do uso de medicamentos para tratamento de hipertensão arterial variando entre 71% na Região Norte a 84% na Região Sul e diabetes 74% a 85%, respectivamente. Santos-Pinto *et al*<sup>19</sup> analisaram o Programa de Farmácia popular e estimaram cerca de 70% dos usuários públicos nas regiões Norte e Nordeste recorrem ao programa para provisão dos medicamentos devido a problemas de acesso nas unidades da Atenção Primária.

O custo médio por paciente internado no SUS, R\$ 7.114 foi semelhante ao relatado por Teich<sup>20</sup> (R\$ 7.219) em estudo relativo à Síndrome Coronariana Aguda.

A análise do custo total por paciente no SUS durante o período sugere que os custos totais são maiores no primeiro ano e ao final do seguimento, mas, não é possível estabelecer um padrão de distribuição dos gastos. Ao se considerar os eventos maiores ocorridos nesta coorte (n=1.021), as variáveis clínicas preditoras de maiores custos foram angina instável, angioplastia, cirurgia de revascularização do miocárdio, diabetes melito, obesidade e hipertensão arterial sistêmica, sendo as internações e reinternações responsáveis por 93% do total de eventos. O elevado número de internações no período de seguimento é consistente com os dados encontrados na literatura que indicam taxas de reinternação superiores a 30% durante o primeiro ano de seguimento<sup>16,21</sup>. De forma esperada, a maior probabilidade de eventos foi associada a custos mais elevados reforçando que os principais direcionadores estão relacionados a presença de marcadores de gravidade dos casos, e conseqüente instabilização e necessidade de internação hospitalar.

Neste estudo, os custos ambulatoriais foram proporcionalmente maiores que os custos de internação em relação ao custo total, principalmente devido às despesas com medicamentos. Este resultado é divergente do encontrado na literatura. O estudo com seguimento de um ano conduzido por Araujo<sup>16</sup> relatou custos de 40% para internação e 39% com medicamentos. Esta diferença pode ter ocorrido em função do método de coleta de dados na quantificação do uso de medicamentos. Nos Estados Unidos, Sieck<sup>22</sup> estimou as despesas hospitalares como responsáveis por 60% e medicamentos por 10% dos custos diretos em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e Dunlay *et al*<sup>23</sup> informou que 77% dos custos na insuficiência cardíaca foram incorridos durante as hospitalizações. A diferença encontrada entre os nossos

resultados e os estudos internacionais pode ter ocorrido porque os valores de internação não acompanharam os índices inflacionários no Brasil. Assim, os preços praticados situaram-se abaixo da correção inflacionária no período. Outro fator que pode ter contribuído foi a retração dos custos de órteses e próteses (stents) nos últimos anos. No início de 2000, eles representavam um custo elevado que foi reduzido em função da ampla gama de produtos com a entrada de produtos do mercado Indiano e Chinês<sup>24</sup>. Além disso, as endopróteses eram adquiridas pelos hospitais com inserção de margem de lucro no repasse para a conta hospitalar e atualmente, são adquiridas diretamente pelos convênios e planos de saúde e pagos diretamente ao fornecedor.

Na análise bivariada, fatores clínicos como insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio prévio, dislipidemia e acidente vascular cerebral não se confirmaram como preditores de maiores custos, ratificando os resultados de outros estudos<sup>14,25,26</sup>. Diabetes melito e angina instável foram maiores direcionadores de custos em nível ambulatorial e hospitalar. A associação do número de eventos maiores com os custos pode ser explicada pelo longo período de acompanhamento desta coorte e o grande número de internações. Estudo realizado em insuficiência cardíaca mostrou que no período de um ano, 51,2% dos pacientes retornam à emergência entre 1 e 12 vezes<sup>27</sup>. Contudo, chama a atenção o fato de que a variação de custos médios totais no SUS é de 211% entre não ter fatores de risco e ter 5 fatores.

Considerando o censo demográfico de 2012 com uma população acima de 18 anos de 9.548.247 e uma prevalência de 7% de cardiopatia isquêmica, os custos diretos anuais na perspectiva do SUS representariam, no mínimo, um gasto de R\$ 3,66 bilhões com cardiopatia isquêmica, valor aproximado ao relatado por Teich<sup>20</sup>.

Algumas limitações deste estudo devem ser destacadas. Os custos relativos aos medicamentos foram estabelecidos constantes durante todo o período de seguimento e sem considerar a existência de subsídios nos programas de Assistência Farmacêutica governamentais nem a adesão ao tratamento o que pode em parte, ter influenciado a elevada proporção da participação destes custos nas análises realizadas. Outra limitação é que os custos neste estudo foram realizados com base no valor da prestação do serviço e não incluem o custo operacional da instituição o que pode gerar subestimativa nos custos apresentados.

## **Conclusão**

Este estudo demonstrou que os custos diretos do tratamento longitudinal da cardiopatia isquêmica são elevados impulsionados, principalmente, pelo tratamento farmacológico crônico e diárias de internação e que os custos são mais elevados no primeiro ano e nos últimos anos de seguimento.

Considerando-se a renda per capita da população brasileira, R\$ 1.052 em 2014, os custos com medicamentos neste estudo sugerem a necessidade de ampliação da Política Nacional de Assistência Farmacêutica para inserção de medicamentos relativos à cardiopatia isquêmica tendo em vista que o acesso aos medicamentos pode impactar na redução da morbimortalidade.

Os dados deste estudo poderão auxiliar na definição de políticas de atenção ao paciente com doença isquêmica cardíaca, com alocação de recursos humanos (médicos, equipe assistencial), físicos (internações, exames) e planejamento financeiro adequado.

**Agradecimentos**

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio financeiro.

**Conflito de interesses**

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

1. Who Library Cataloguing-In-Publication Data. Global Status Report On Noncommunicable Diseases 2010. Disponível a partir de: [http://www.who.int/nmh/publications/ncd\\_report2010/en/](http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/). [Acessado 05 maio, 2014].
2. Duncan BB, Stevens A, Schmidt MI. Mortalidade por doenças crônicas no Brasil: situação em 2010 e tendências de 1991 a 2010. In: Saúde Brasil 2011: uma análise da situação de saúde e a vigilância da saúde da mulher. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação de Saúde; 2012. p. 93-104.
3. Ministério da Saúde. Datasus. Sistema de informações de mortalidade. Óbitos por residência por ano do óbito segundo capítulo CID-10. Dados preliminares de mortalidade 2010. Disponível a partir de: <http://www.datasus.gov.br>. [Acessado 12 janeiro, 2016].
4. Teich V, Araujo DV. Estimativa do custo da síndrome coronariana aguda no Brasil. Rev Bras Cardiol, 2011;24(2):85-94.
5. Garko MG. Coronary heart disease – Part I: the prevalence, incidence, mortality and pathogenesis of the leading cause of death in the United States. Health and Wellness Monthly, 2012 Sept. Disponível a partir de: [www.letstalknutrition.com](http://www.letstalknutrition.com). [Acessado 16 janeiro, 2016].
6. Polanczyk CA, Ribeiro JP. Coronary artery disease in Brazil: contemporary management and future perspectives. Heart, 2009;95(11):870-876.
7. Ribeiro RA, Mello RGB, Melchior R, Dill JC, Hohmann CB, Lucchese AM, et al. Custo anual do manejo da cardiopatia isquêmica crônica no Brasil. Perspectiva pública e privada. Arq Bras Cardiol, 2005;85(1):3-8.
8. Ministério da Saúde. Glossário temático: economia da saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006.
9. Harris PA, Taylor R, RThielke, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap): a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. J Biomed Inform, 2009 Apr;42(2):377-381.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Índice Nacional de Preços ao Consumidor Amplo - IPCA e Índice Nacional de Preços ao Consumidor – INPC. Disponível a partir de: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). [Acessado 15 agosto, 2015].
11. Ministério da Saúde. Avaliação econômica em saúde: desafios para gestão no Sistema Único de Saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2008.
12. Stone DF. Clarifying (Opportunity) Costs. Forthcoming: The American Economist, 2014.
13. Pinto MP, Ugá MAD. Os custos de doenças tabaco-relacionadas para o Sistema Único de Saúde. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2010 jun.;26(6):1234-1245.
14. Ribeiro RA, Mello RGB, Melchior R, Dill JC, Hohmann CB, Lucchese AM, et al. Custo anual do manejo da cardiopatia isquêmica crônica no Brasil: perspectiva pública e privada. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2005;85(1):3-8.
15. Azambuja MIR, Foppa M, Maranhão MFC, Achutti AC. Impacto econômico dos casos de doença cardiovascular grave no Brasil: uma estimativa baseada em dados secundários. Arq Bras Cardiol, 2008;91(3):163-171.

16. Araújo DV, Tavares LR, Veríssimo R, Ferraz MB, Mesquita ET. Custo da insuficiência cardíaca no Sistema Único de Saúde. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2005 maio/jun.;84/85(1/5).
17. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil: 2011-2022. Brasília, 2011.
18. Tavares NUL, Costa KS, Mengue SS, Vieira MLFP, Malta DC, Silva Júnior JB. Uso de medicamentos para tratamento de enfermidades crônicas no trasmisibles en Brasil: resultados de la Encuesta Nacional de Salud, 2013. *Serv. Saúde*, Brasília, 2015;24(2):315-323.
19. Santos-Pinto CB, Costall NR, Osorio-de-Castro CGS. Quem acessa o Programa Farmácia Popular do Brasil? Aspectos do fornecimento público de medicamentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2011;16(6):2963-2973.
20. Teich V, Araújo DV. Estimativa do custo da síndrome coronariana aguda no Brasil. *Rev. Bras. Cardiol*, 2011;24(2):85-94.
21. Ambrosy AP, Fonarow GC, Butler J, Chioncel O, Greene SJ, Vaduganathan M, et al. The Global Health and Economic Burden of Hospitalizations for Heart Failure-Lessons Learned From Hospitalized Heart Failure Registries. *J Am Coll Cardiol*, 2014;63(12):1123-1133.
22. Sieck S, Peacock WF. Short stay management of acute heart failure. 2. ed. AHA: American Heart Association, 2012.
23. Dunlay SM, Shah ND, Shi Q, Morlan B, VanHouten BAH; Long KH, et al. Lifetime costs of medical care after heart failure diagnosis. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2011;(4):68-75.
24. Vasconcelos Y. Agora feito no Brasil. *Revista Pesquisa FAPESP*, São Paulo, 2010 jul.:(173):75-77.
25. Pithan CF, Souza FB, Fay CE, Pretto G, Imhof BV, Souza J, et al. Preditores de eventos cardíacos maiores em pacientes com cardiopatia isquêmica estável. *Revista HCPA*, 2003 set.;23(Suplem):186.
26. Latado AL, Passos LCS, Braga JCV, Santos A, Guedes R, Moura SS, et al. Preditores de letalidade hospitalar em pacientes com insuficiência cardíaca avançada. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2006 ago.; 87(2): 185-192.
27. Barretto ACP, Del Carlo CH, Cardoso JN, Morgado PC, Munhoz RT, Eid MO, et al. Re-hospitalizações e morte por insuficiência cardíaca: índices ainda alarmantes. *Arq Bras Cardiol*, 2008;91(5):335-341.

**Tabela 1 - Características basais da População (n=330)**

	N (%)
Sexo masculino	181 (54,8)
Idade média (anos) *	61 ± 10,3
Infarto agudo do miocárdio	204 (61,8)
Angina Instável	94 (28,5)
Cirurgia de revascularização do miocárdio	102 (30,9)
Acidente vascular cerebral	21 (6,4)
Insuficiência cardíaca	18 (5,5)
Angioplastia	169 (51,2)
Diabete melito	115 (34,8)
Hipertensão arterial	277 (83,9)
Dislipidemia	185 (56,1)
Tabagismo ativo	53 (16,1)
Tabagismo passado	196 (59,4)
Obesidade	86 (26,1)
Sobrepeso	139 (42,1)
Atividade Física	109 (33,0)
Classe CCS	
I	241 (73,0)
II	68 (20,6)
III	17 (5,2)
IV	4 (1,2)
Origem Pacientes	
Porto Alegre	171 (51,8)
Região Metropolitana	122 (37)
Interior RS	35 (10,6)
Outros Estados	2 (0,6)
PAS *	138,7 (80 -230)
PAD*	82,6 (50 – 160)
Tempo de seguimento **	107,38 ± 2,62

\*expressa em mediana e intervalo interquartil. \*\*expressa em meses CCS= Classe Funcional; PAS= Pressão Arterial Sistêmica; PAD= Pressão Arterial Diastólica



Tabela 2 - Preços unitários do Sistema Único de Saúde

<b>Recursos</b>	<b>Preço</b>
Consultas	7,55
Diárias*	NA
Diárias de UTI III	508,63
<b>Procedimentos**</b>	
Angioplastia Coronariana	2.564,10
Angioplastia Coronariana Primária (inclui cateterismo)	4.691,80
Angioplastia Coronariana com Implante de Stent	4.598,60
Angioplastia Coronariana com Implante de Dois Stents	7.524,00
Cateterismo Cardíaco	1.317,04
Revascularização do Miocárdio com Uso de Extracorpórea	13.246,07
<b>Exames Diagnósticos</b>	
Cintilografia miocárdica com dipiridamol	408,52
Cintilografia miocárdica de esforço	408,52
Cintilografia miocárdica em repouso	383,07
Ecocardiograma	39,94
Ecocardiograma de estresse	165,00
Eletrocardiograma	5,15
Ergometria	30,00
Holter	30,00
MAPA***	10,07
Raio-X de Tórax AP	6,88
Ultrassonografia doppler colorido de vasos	39,60
<b>Exames Laboratoriais</b>	
Cálcio	1,85
CK	3,68
CK-MB	4,12
Colesterol HDL e LDL	3,51
Colesterol Total	1,85
Creatinina	1,85
Curva Glicêmica	3,63
Exame Qualitativo de Urinária	3,70
Fósforo	1,85
Glicose	1,85
Hemoglobina Glicosilada	7,80
Potássio	1,85
Proteína C Reativa	2,83
Transaminase Glutâmico-Oxalacética (TGO)	2,01
Transaminase Glutâmico-Piruvica (TGP)	2,01
Tireotrofina	8,96
Triglicerídeos	3,51
Troponina	9,00
Ureia	1,85

**Tabela 3 - Custos totais ambulatoriais**

	Consultas	Exames Laboratoriais	Exames Diagnósticos	Medicamentos*	Transporte*	Cateterismo	Custo Total Ambulatorial
N	330	326	325	330	330	208	330
Média	211,95	644,12	1.792,46	22.225,07	523,14	1.871,03	26.541,10
Mediana	211,40	539,87	1.466,31	19.868,10	266,50	1.229,44	23.542,23
Mínimo	22,65	38,10	25,75	0,00	26,00	614,72	991,14
Máximo	573,80	3.289,54	6.272,79	84.819,30	16.609,80	10.037,21	94.296,19
Total	69.943,20	209.983,37	582.550,55	7.334.271,61	172.637,66	389.175,38	8.758.561,77

Tabela 4 – Custos durante a Internação

<b>Custo Médio por Internação</b>	<b>Valor</b>
N	251
Média	7.114,34
Mediana	6.157,42
Desvio Padrão	4.434,07
Mínimo	373,75
Máximo	39.651,16
<b>Custo Cumulativo com Internações</b>	
Média	21.977,12
Mediana	14.709,67
Desvio Padrão	21.037,40
Mínimo	373,75
Máximo	140.005,06
Total	5.516.257,83

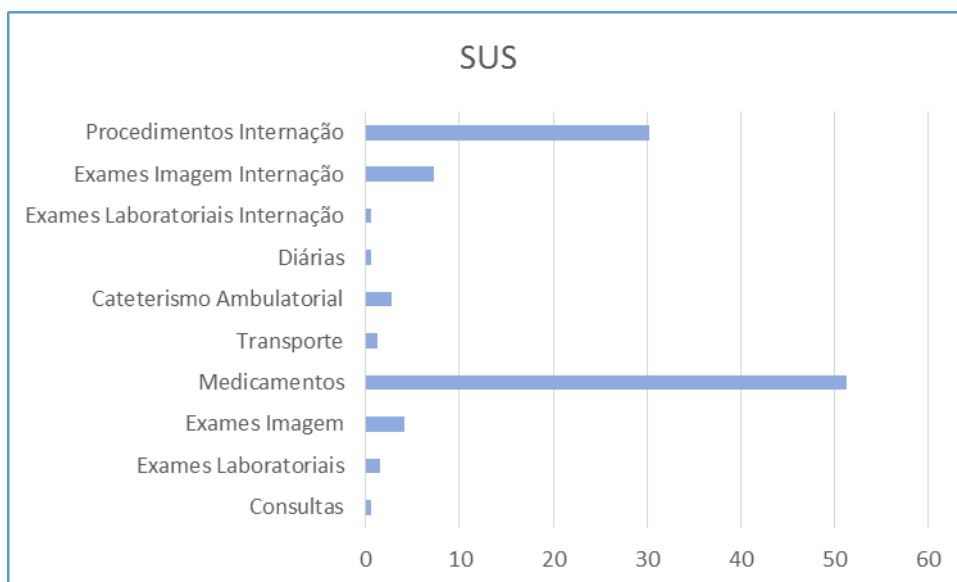
**Tabela 5 - Custos por paciente considerando ambulatório e internação**

<b>Custo total por paciente (n=330)</b>	<b>Valor</b>
Média	43.257,03
Mediana	35.016,94
Desvio Padrão	29.284,80
Mínimo	991,14
Máximo	213.975,94
Total	14.274.819,61
<b>Custo anual por paciente</b>	
Média	5.477,56
Mediana	4.381,57
Desvio Padrão	4.217,36
Mínimo	856,05
Máximo	29.418,60
Total	1.807.595,38

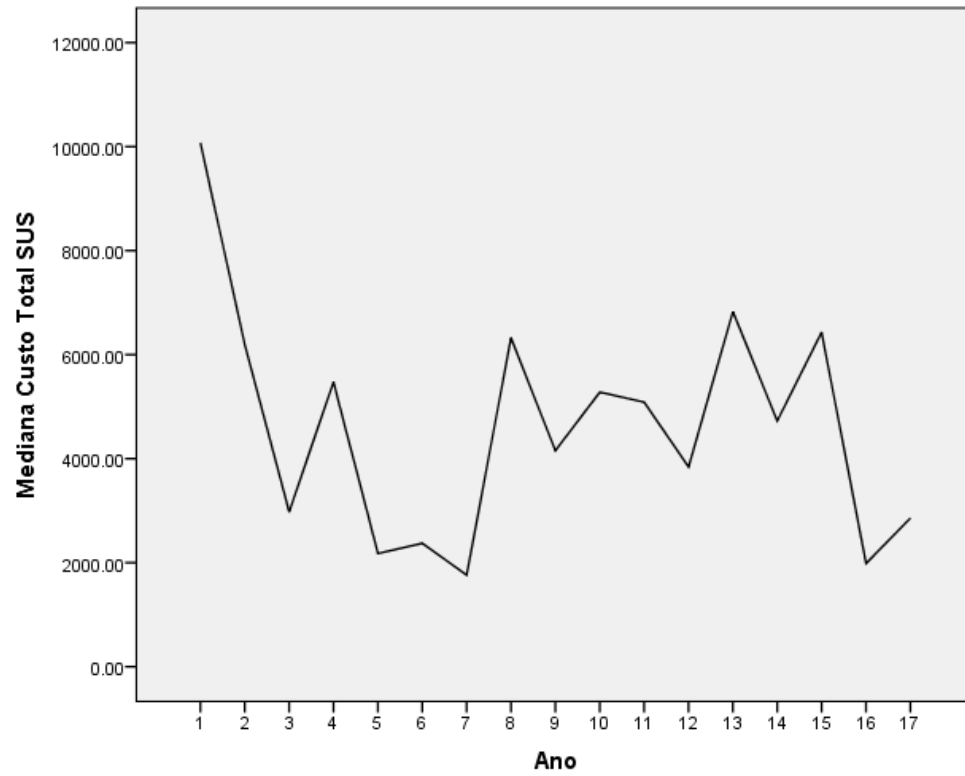
**Tabela 6 – Custo anual mediano por paciente estratificado por preditores clínicos**

	Preditor Clínico		P*
	Masculino	Feminino	
	4.218,27	4.675,86	0,884
	≤74 anos	≥ 75 anos	0,809
	4.366,37	4.582,63	
	AVC	Sem AVC	0,158
	4.684,06	4.316,73	
	Angina Instável	Sem Angina Instável	0,002
	5.364,89	4.031,38	
	CRM	Sem CRM	0,01
	5.121,90	4.164,56	
	IAM	Sem IAM	0,562
	4.159,71	4.536,99	
	Diabetes	Sem Diabetes	< 0,01
Mediana	5.400,67	4.118,89	
	Dislipidemia	Sem Dislipidemia	0,271
	4.171,37	4.557,41	
	Hipertensão	Sem Hipertensão	0,03
	4.438,40	4.261,39	
	IMC ≤ 30	IMC ≥ 30	0,011
	4.125,20	5.395,48	
	Tabagismo Ativo	Sem Tabagismo Ativo	0,838
	3.813,75	4.245,95	
	Insuficiência Cardíaca	Sem Insuficiência Cardíaca	0,179
	5.338,75	4.352,56	
	Angioplastia	Sem Angioplastia	< 0,01
	5.369,97	3.514,65	

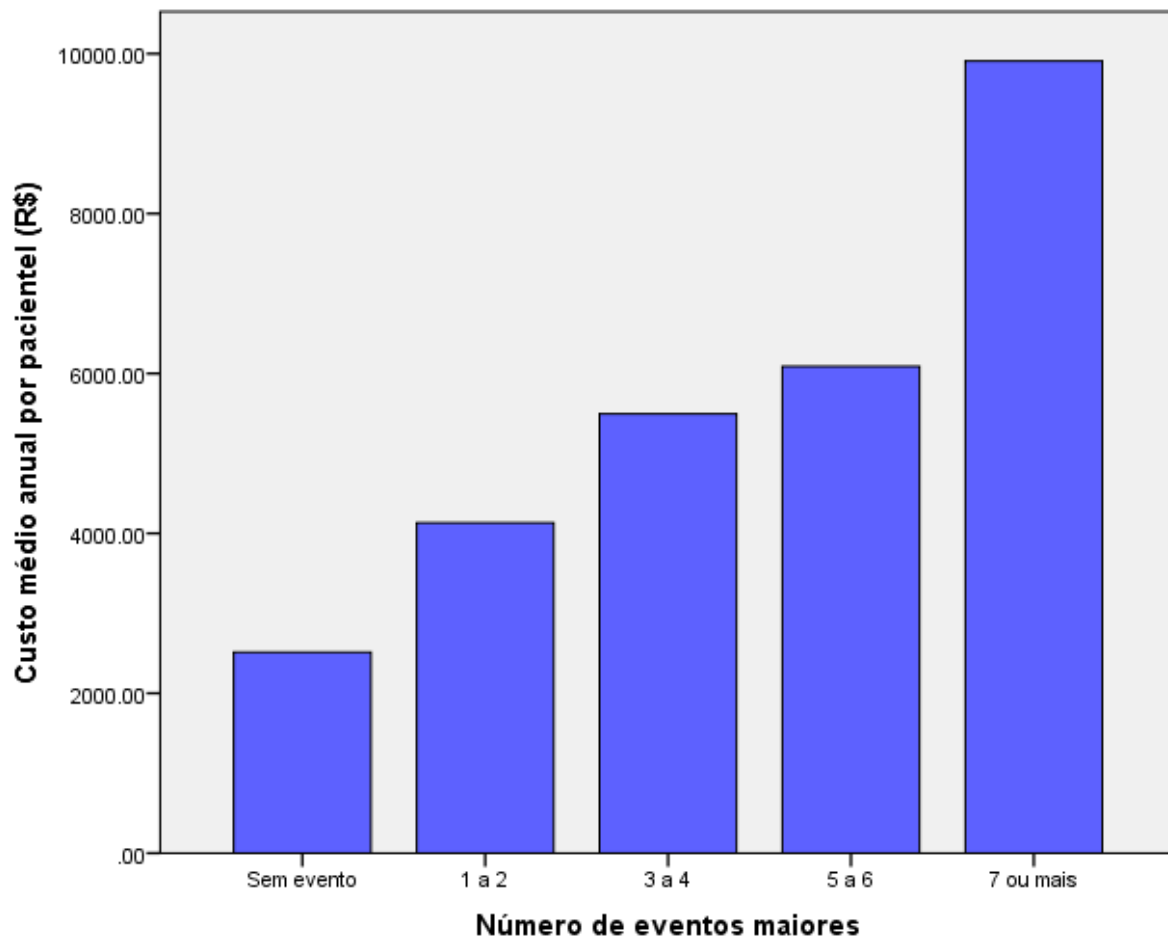
\* Teste de Mann-Whitney



**Figura 1 - Proporção dos custos individualizados no custo total durante o seguimento**

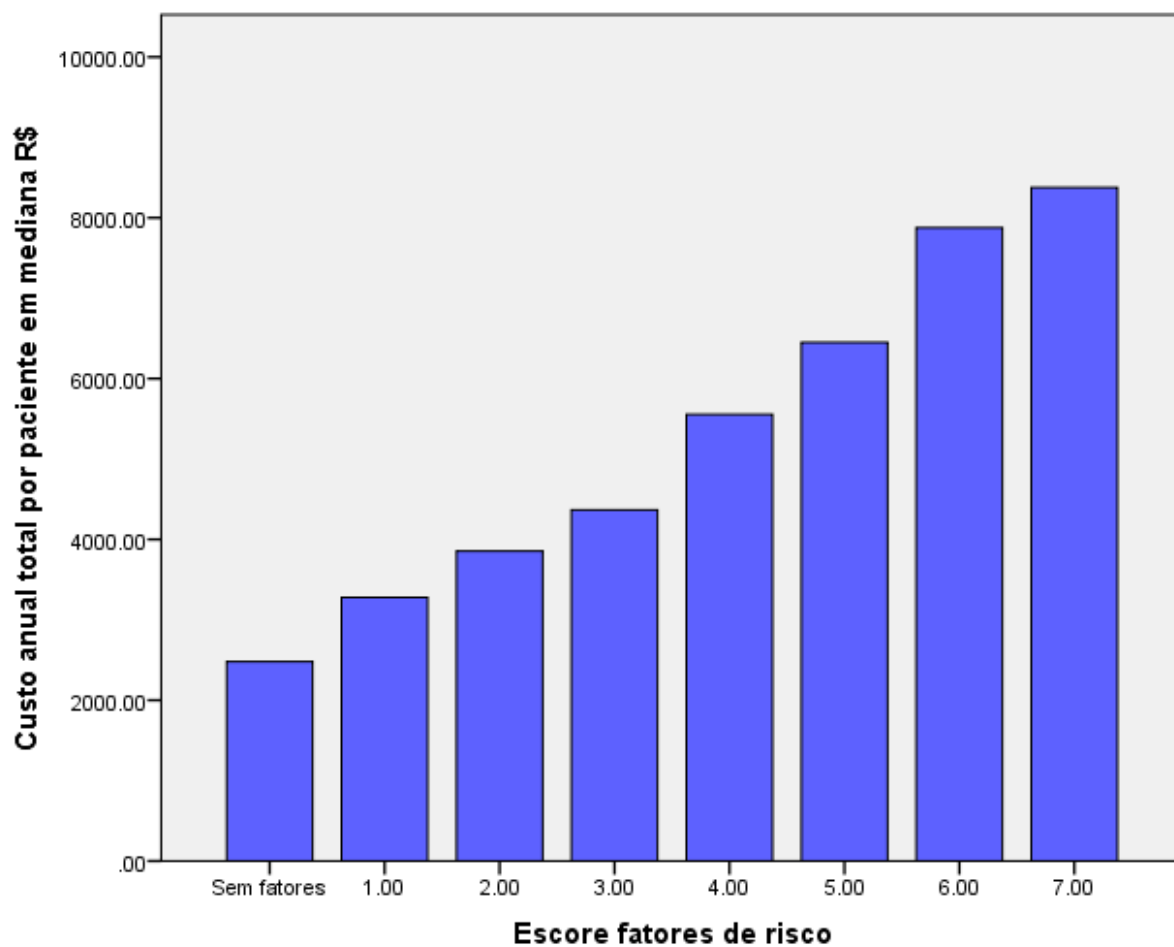


**Figura 2 - Custo total no Sistema Único de Saúde por ano de seguimento (em mediana)**



**Figura 3 - Custo médio anual por paciente considerando o número de eventos maiores (cirurgia de revascularização do miocárdio, internação e óbito)**





**Figura 4 - Custo mediano anual por paciente considerando as probabilidades estimadas de acordo com os preditores clínicos significantes na análise bivariada (angina instável, angioplastia, cirurgia de revascularização, diabete, hipertensão e obesidade)**

## Material Suplementar

**Tabela S7 - Custos com medicamentos**

<b>Custos Medicamentos</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Total</b>
Antiarrítmico	330	0,02	0,00	0,12	8,05
Anticoagulante	330	0,02	0,00	0,10	7,05
Antiplaquetário	330	0,72	0,23	1,49	236,99
Betabloqueador	330	0,66	0,70	0,56	219,07
Bloqueador de Cálcio	330	0,79	0,00	1,13	260,41
Bloqueador do Receptor BRA	330	0,23	0,00	0,51	75,63
Diurético	330	0,28	0,20	0,35	94,02
Estatina	330	2,07	1,82	1,22	681,61
Hipoglicemiante	330	0,36	0,00	0,53	119,96
Hipouricemiante	330	0,01	0,00	0,07	2,52
Inibidor de IECA	330	0,94	0,80	1,01	309,95
Nitrato	330	0,28	0,00	0,52	91,76
Omeprazol	330	0,41	0,00	0,58	136,17
Outros POS	330	0,13	0,00	0,40	44,02
Custo Total/dia	330	6,93	6,36	3,13	2.287,19
Custo Total Seguimento	330	22.225,07	19.868,10	14.110,89	7.334.271,61

**Tabela S8 - Quantitativo de exames realizados na internação no período de seguimento**

<b>Exames</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Total</b>
Hemoglobina Glicosilada	48	1,42	1	1,05	1	6	68
TGP	178	3,97	2	4,29	1	22	707
TGO	182	4,07	2	4,59	1	27	741
Cálcio	133	4,99	3	8,04	1	69	664
CK-MB	202	10,29	7	13,05	1	119	2.078
Colesterol Total	86	1,42	1	0,77	1	4	122
CK	212	10,36	7	12,81	1	115	2.196
Creatinina	253	19,85	9	34,46	1	404	5.022
EQU	131	6,03	3	8,45	1	65	790
Fósforo	58	4,55	1	8,99	1	60	264
Glicose	204	5,18	3	6,65	1	51	1.056
Colesterol HDL	83	1,37	1	0,69	1	4	114
Potássio	250	21,01	9	36,92	1	409	5.252
Colesterol LDL	48	1,25	1	0,67	1	4	60
Proteína C Reativa	89	6,29	3	9,14	1	59	560
Troponina	162	8,77	5	12,66	1	102	1.420
Triglicérides	88	1,52	1	1,50	1	11	134
Tireotrofina	67	2,18	1	2,17	1	13	146
Ureia	248	18,94	8	33,30	1	387	4.698

Tabela S9 - Quantitativo total de exames realizados no seguimento

	Número de Pacientes	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Total de Exames
<b>Exames Laboratoriais</b>							
Cálcio	109	6,76	2	19,54	1	179	737
CK <sup>1</sup>	234	3,54	2	3,62	1	30	829
CK-MB <sup>2</sup>	118	2,36	2	2,05	1	12	279
Colesterol HDL	326	24,75	24	13,14	2	78	8.069
Colesterol LDL	281	4,83	3	4,58	1	36	1.356
Colesterol Total	326	24,94	24	13,48	2	77	8.132
Creatinina	326	26,79	22	20,56	1	159	8.735
Curva Glicêmica	142	1,89	2	1,14	1	6	269
EQU <sup>3</sup>	262	9,15	5	13,29	1	149	2.397
Fósforo	59	9,1	2	24,66	1	172	537
Glicose	325	24,2	20	17,72	1	147	7.864
Hemoglobina Glicosilada	284	16,37	10	18,41	1	94	4.648
Potássio	324	19,63	16	16,62	1	161	6.360
Proteína C Reativa	152	1,91	1	2,75	1	24	290
TGO <sup>4</sup>	311	10,28	9	8,06	1	59	3.197
TGP <sup>5</sup>	310	10,82	9	11,45	1	142	3.355
Tireotrofina	257	5,6	3	6,43	1	30	1.440
Triglicerídeos	326	24,65	24	13,45	2	76	8.037
Troponina	88	2,28	2	1,59	1	10	201
Ureia	323	13,57	10	15,77	1	184	4.382
<b>Exames Diagnósticos</b>							
Cintilografia com dipiramidol	181	1,96	2	1,1	1	6	355
Cintilografia de esforço	131	1,36	1	0,66	1	4	178
Cintilografia em repouso	236	2,2	2	1,28	1	7	519
Ecocardiografia Abdominal	3	1,33	1	0,58	1	2	4
Ecocardiograma	298	2,57	2	1,8	1	15	767
Ecocardiograma de estresse	15	1	1	0	1	1	15
Ecodoppler colorido	15	1,73	1	0,96	1	4	26
Eletrocardiograma	320	9,38	7	8,7	1	78	3.002
Ergometria	202	2,06	2	1,31	1	8	416
Holter	105	1,47	1	0,79	1	4	154
MAPA <sup>6</sup>	100	1,69	1	1,06	1	6	169
Raio-X de Tórax AP	46	1,61	1	1,72	1	12	74

1 Creatinofosfoquinase, 2 Creatinofosfoquinase Fração MB, 3 Exame Qualitativo de Urina, 4 Transaminase Glutâmico-Oxalacética, 5 Transaminase Glutâmico-Pirúvica, 6 Monitorização Ambulatorial de Pressão Arterial

**ARTIGO 2:****Costs of genetic testing: supporting brazilian public policies for the  
incorporating of molecular diagnostic technologies**

Rosane Paixão Schlatter<sup>1,3,6</sup>

Ursula da Silveira Matte<sup>4,5</sup>

Carisi Anne Polanczyk<sup>1,2,3,6</sup>

Patrícia Koehler-Santos<sup>5</sup>

Patricia Ashton-Prolla<sup>4,7</sup>

1 Graduate Program of Cardiology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

2 Cardiology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

3 Department of Medicine and Post Graduate Program of Cardiology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

4 Department of Genetics, Post-Graduation Program in Genetics and Molecular Biology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

5 Laboratory of Gene Therapy, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

6 National Institute for Health Technology Assessment, CNPq, Brazil.

7 Medical Genetics Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

\*Corresponding author: Rosane P Schlatter, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, RS, Brazil, 90035-903. E-mail: [rschlatter.hcpa@gmail.com](mailto:rschlatter.hcpa@gmail.com)

Short running title: Costs of Oncogenetic Diagnostics

**Abstract**

This study identifies and describes the operating costs associated with the molecular diagnosis of diseases such as hereditary cancer. To approximate the costs associated with these tests, data informed by Standard Operating Procedures for various techniques was collected from hospital software and a survey of market prices. Costs were established for four scenarios of capacity utilization to represent the possibility of suboptimal use in research laboratories. Cost description was based on a single site. The results show that only one technique was not impacted by rising costs due to underutilized capacity. Several common techniques were considerably more expensive at 30% capacity, including polymerase chain reaction (180%), microsatellite instability analysis (181%), gene rearrangement analysis by multiplex ligation probe amplification (412%), non-labeled sequencing (173%) and quantitation of nucleic acids (169%). These findings may be relevant for the definition of public policy and suggest that investment of public funds in the establishment of centralized diagnostic research centers would reduce costs to the Public Health System.

**Keywords:** Molecular diagnosis. Hereditary cancer. Cost analysis.

## Introduction

Over the past several decades, there has been a significant increase in the number of medical consultations and hospital admissions due to genetic diseases, especially in large centers and reference hospitals in Brazil (Horovitz et al., 2013). Diagnosis and genetic counseling for individuals and families with genetic diseases involves, in most cases, laboratory exams in the areas of biochemistry, cytogenetics and molecular genetics. Public and private medical services specialized in medical genetics are mainly located in large urban centers, primarily in public and academic institutions that are not always equipped with laboratories and staff to provide the genetic testing needed for diagnosis (Toledo et al. 2012; Melo and Sequeiros, 2012). Furthermore, molecular diagnostic technologies were not added to the list of procedures of the Brazilian Public Health System (SUS) until 2014, and only rare diseases were included at this time. In addition, molecular screening for hereditary cancer was not included as a compulsory coverage procedure of the National Health Agency (ANS) until 2012. Therefore, access to these exams is still very limited for the population as a whole (Horovitz et al., 2013; Vieira et al., 2013).

Estimating the costs of these new technologies would aid in the development of better strategies to enable greater access and equity of care. To support the development of public policy aimed at the inclusion of new molecular diagnostic technologies in the SUS, a multidisciplinary working group evaluated operating costs of different methodologies, using diagnosis of familial cancer as a case study.

## Familial Cancer

Although most cancers result from complex interactions between the genetic composition of the individual and the environment, a small percentage of cancers are primarily due to inherited changes that confer a high predisposition to the disease. Individuals with hereditary forms of cancer develop one or more tumors at a young age and can transmit this predisposition to their descendants. Today it is estimated that at least 5-10% of all tumors are associated with inherited genetic disorders, and over 50 distinct syndromes have been described as conferring a predisposition to cancer (Lindor et al., 2008; Weitzel et al., 2012). From the identification of a gene to cancer predisposition, a number of procedures are available that contribute to the best patient care. Among them, molecular diagnostics and predictive tests are available, which are important for clinical assessment and genetic counseling programs for families at risk. These tests are also considered in the preparation of guidelines for screening, early diagnosis and prevention of cancer in these cases (Meiser et al., 2006; Schmidtke and Cassiman, 2010; Garber and Offit, 2005). For example, identifying a germline mutation in the BRCA1 gene, which predisposes the patient to breast cancer, guides the referral to a specialized screening program. This includes an earlier start of mammography, additional imaging tests such as MRI of the breasts with contrast, and discussion of prophylactic mastectomy and salpingo-oophorectomy in women aged 35-40 years. On the other hand, testing negative for a mutation in BRCA1 allows the patient to be monitored in the same manner as any other woman of the same age in the general population, freeing her from intensive screening and decreasing the burden to the health system.



However, at present, there is no health policy for inclusion of individuals with hereditary risk for cancer in the Brazilian Public Health System, which evaluates the cost-effectiveness of preventive methods and early diagnosis in these individuals by comparison to the treatment and rehabilitation of cancer patients. Estimating the operating costs of genetic tests needed for familial cancer diagnosis is an essential step in this process. In this article, we describe the estimated operating costs for molecular diagnostic testing of several diseases prioritized by the National Familial Cancer Network (Brazilian Health Ministry, 2013).

## **Methods**

This is a descriptive and quantitative study performed in 2012 under the auspices of the Public Health System (SUS) as a public service provider. The study utilized data from the Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA), a public university general and high complexity hospital with care, teaching and research activities. The main figures used in this study were based on a literature review of cost calculation, ownership legislation prevailing in the country and management in health care services (Martins, 2001; Muenning, 2008; Brazilian Health Ministry, 2009; Balbinotto and Jardim, 2013; Brasil, 1990; Brasil, 2004).

### Data Collection

Most management parameters at HCPA are accessible by computer, which facilitating this analysis. The databases of two consolidated management tool software programs used at the hospital were used as the data source. To obtain direct costs of diagnostic procedures, the database of the 'Application for Hospital Management'

(AGH) software program was used. To obtain indirect costs, the 'Management Information System' (IG) program was used, as it contains a specific cost module called 'Absorption Cost System'. It corresponds to the Business Intelligence System widely used in business management (Duan and Xu, 2012; Elbashir, Collier, Sutton, 2011). Both software programs housed data for the period of January to December 2012. The Standard Operating Procedure (SOP) of each technique was used to estimate costs of different techniques, using the latest version available in the laboratory. The tests were monitored by the researcher to confirm the validity of the SOP. This was also used as a guide for setting the maximum capacity, which consisted of determining the maximum number of samples that could be processed for a technique given full capacity operation of equipment and an eight-hour work day. This number was designated as 100% usage of available capacity. For example, for DNA extraction using a GE kit, 12 blood samples was considered 100% capacity, because this is the maximum number of samples that could be processed simultaneously in the available microcentrifuge. Thus, for each technique, the value of 100% capacity is dependent on the equipment used. For comparison purposes, the analysis of 70%, 50% and 30% of available capacity scenarios was defined a priori. To calculate cost in these scenarios, variable costs were adjusted accordingly (for instance, half of the kit is used for 6 blood samples), whereas invariable costs were held constant (the amount of work hours is the same whether 12, 6 or 3 samples are processed). The performance of multiple techniques on a single machine [e.g., a Genetic Analyzer used to perform assays of microsatellite instability (MSI), multiplex ligation probe amplification (MLPA) and DNA sequencing] has required the distribution of total usage hours / month at 100% capacity among the techniques; equal division among techniques was used in this model.

## Cost Analysis

Direct costs included raw materials and supplies, hired personnel, equipment depreciation, general expenses, telephone, electricity and water (the last two costs were prorated according to the area in square meters of the laboratory where tests are performed). In the estimates presented here, the direct costs of raw materials and supplies were also based on the SOP for the technique. For each technique, consumables and quantity required for implementation were listed, and the price of materials was set at the market value of the last purchase made by the hospital. For products obtained on the Brazilian market, information was obtained from AGH software. For imported products, an updated invoice for direct import was requested and the value converted into Brazilian currency at the commercial exchange rate on the date of the proposal, and 30% was added to cover additional costs of import. It is worthy of mention that imports made for research purposes benefit from tax exemptions according to current law (Brasil, 1990; Brasil, 2004). Direct costs were prorated by the number of samples processed in the laboratory according to the full capacity of the equipment. To determine the cost of personnel, the basic gross salary of professionals involved in performing the test was used and social security charges and hourly wage was calculated. The costs associated with analysis and interpretation of genetic testing or with administrative staff and other areas of organizational structure were not considered. The cost of equipment depreciation was obtained from the information generated by the patrimonial control department of the hospital; the acquisition cost of the equipment was not included. Additionally, a value of 10% (overhead) on the total amount of direct costs was defined a priori, referring to the losses of consumables that occur during the execution of techniques. Indirect costs

included cleaning, building maintenance, property security, and energy were and obtained from the IG software. As these costs are determined by the size of the laboratory space, the total cost incurred by the institution housing the laboratory was divided by the size in square meters of the laboratory itself, such that only the cost for the laboratory used was considered. In the case of a multi-user laboratory, many projects utilize the equipment available, which led to the definition of an indirect cost per project (total overhead cost per square foot of laboratory / monthly average of projects), an amount allocated to all techniques due to lack of information that would allow prorating for technique. Furthermore, the costs of occupational medicine, which in software IG are allocated according to use by employees, were included.

#### Techniques, tests and exams in oncogenetics

As stated above, the first step in cost analysis was estimating costs per laboratory technique and subsequently calculating costs for tests and exams. The costs per test include the combined use of several techniques on the same sample to obtain a result [for example, DNA sequencing requires prior performance of a polymerase chain reaction (PCR), and the latter requires the prior performance of DNA extraction]. The exam is the ensemble of tests required for the evaluation of a diagnostic hypothesis in one patient. It includes, besides the collection of biological samples, confirmatory analyses whenever necessary. The ten diagnostic tests included in cost calculation of the present study were those identified as priorities by the National Familial Cancer Network. The overall design, including the different stages considered in the calculation of operating costs, is summarized in Table 1. The

description of the components that were considered in the cost analysis is depicted in the Supplementary Material (Supplementary tables 1 to 10).

## Results

The initial stage of pricing techniques was performed based on the assessment of SOP, including not only the cost of reagents but also that of personnel and indirect costs as mentioned above. Cost description was based on a single site. Eleven different techniques prioritized by the National Familial Cancer Network have been selected. Table 1 presents the estimated cost of one these techniques, the polymerase chain reaction (PCR). The average cost to the public health system for PCR assay of one sample is US \$1.58.

At first, costs were established by assuming 100% capacity, a strategy that maximizes resource use but does not always represent reality in research or diagnostic laboratories. Thus, costs were also calculated for three other scenarios at lower capacity. As shown in Table 2, the cost of only one technique - immunohistochemistry analysis using a panel of 4 antibodies (for the identification of MMR deficiency) – was unaffected by suboptimal capacity. Most techniques showed greater variation in cost at 30% of available capacity, including MLPA (412%), conventional PCR (180%), microsatellite instability (181%), sequencing of unlabeled samples (173%), and quantification of nucleic acid (169%). For MLPA, because the number of control samples required does not change in proportion to the number diagnostic samples, performing this test at 30% capacity is unfeasible from an economic point of view (Supplementary table 11).

The cost of a test was calculated from the sum of the techniques needed to obtain a result that is provided to the patient. Table 3 shows the estimated cost for BRCA1 gene testing. The cost of each procedure involved depends on the combination of tests requested on the basis of clinical suspicion and indications of the genes to be analyzed in each case and is estimated to be US \$1,856.61 per exam. An important point to highlight is that the overall cost submitted for complete analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes is the cost of analysis for the index case in a family. Once a mutation associated with familial risk has been identified, other family members need only be tested for that particular mutation, making costs associated with screening significantly lower (Table 3). This is the strategy recommended by good practices and used in all molecular tests reported here.

## **Discussion**

Although it has been traditionally considered a procedure of high complexity and cost, molecular genetic testing is a key step in the diagnosis of most genetic diseases. Genetic testing is also crucial for predictive diagnosis of some diseases and for evaluating family members at risk, in whom it is possible to define the presence of genetic risk prior to clinical onset of the disease and to consequently intervene to reduce risk. Cost analysis of genetic testing can provide a benchmark for developing remuneration policies for laboratory activities because there is great heterogeneity of existing public and private diagnostic services, both in adequacy of laboratory methodologies and in price of services provided. Cost analysis is also an essential step to support other studies of cost-effectiveness and cost-benefit in the future.

In the approach presented here, an estimated cost of genetic testing that reflects key components of the analysis based on direct (e.g., blood sampling, purchase of raw materials and supplies, hired personnel, equipment depreciation, losses of 10%) and indirect (e.g., structure and building maintenance) costs was performed. We did not find studies in the literature with the same degree of detailing costs that we provide in this study. We did find some studies that used similar criteria in the collection of data such as the cost of materials, staffing and the use of market prices for calculation of the costs (Lawrence et al., 2001; Holland, Huston, Noyes, 2009; Najafzadeh et al., 2012; Wang et al., 2012). It is important to emphasize that this study is limited by its approach, which could be considered only the first of economic analysis, and by the fact that only one type of laboratory structure at one institution was used in these estimations. Although these costs will not directly apply to all other institutions, we are confident that our data and approaches may yield valuable information that can be used in other institutions and can be applied to related scenarios involving clinical genetics testing.

Two factors can be considered the main determinants of the cost values obtained in this study: the use of the available capacity and the sequencing methodology used. The volume of analysis has a large impact on cost, mainly due to the value of manpower for execution of the different techniques. Unlike the time needed for analysis and interpretation of results, the time spent preparing 12 or 6 samples is almost the same. Moreover, some techniques increase costs due to the need for reagents with a fixed volume that do not change when reducing the number of tests (e.g.: sequencing) and the apportionment of overhead costs, which also remains unchanged. These findings can contribute for the definition of public policies and suggests that investment in this area should be allocated to the creation and

consolidation of research centers for diagnosis that can receive samples from different localities in a region or state, or even from different regions in the country, thereby reducing costs to the NHS. In addition to reducing costs, this strategy also benefits from increased expertise in interpreting results, which is a highly complex process. A similar strategy has been successfully implemented in different countries (Bourret et al, 2006; Ontario Cancer Genetics Network, 2013).

The second cost determinant is the core gene analysis methodology used in this study: Sanger sequencing. Despite its considerable cost, this approach is used because it is still considered the gold standard technique in molecular diagnostics, including cancer genetics, and its clinical utility has been clearly demonstrated with high sensitivity and specificity and largely validated by international quality control programs. However, emerging technologies such as next-generation sequencing are matching Sanger sequencing in sensitivity and specificity and can provide the same result at a significantly lower cost, with the additional advantage of the possibility of simultaneous analysis of multiple regions of the genome. The validation of these new technologies and their implementation into clinical practice are in progress at this time in various countries, and their definitive inclusion into clinical practice should occur within the next few years (Wang et al., 2012; Bourret et al., 2006).

## **Conclusion**

This study identifies and describes the operating costs associated with the molecular diagnosis of genetic diseases. Two main factors were identified as main determinants of the cost values obtained in this study: the use of the available capacity and the techniques used for genetic testing. Although the molecular biology techniques



evaluated in this study are presented in the context of hereditary cancer diagnosis, they can be applied to the diagnosis of many other inherited diseases. Thus, the scope of the results presented here extends beyond tests involving cancer genetics, and the data can be extrapolated to other clinical situations in which molecular analysis of germline mutation is crucial for differential or predictive diagnosis and for choosing a therapeutic strategy. Calculating the costs associated with diagnostic tests by considering their standard operating procedures can help to standardize these surveys in future studies analyzing the budgetary impact of the inclusion of new molecular diagnostic tests in the Brazilian Public Health System.

#### Acknowledgments

This work was supported by grant from the Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA).

## References

- Balbinotto G and Jardim A. (2013). PHS40 – Cost-utility of HPV for prevention of cervical cancer in the Roraima (Brazilian Amazonic) region: a markov model approach. *Value in Health* 16(3): A191–A192.
- Bourret P, Mogoutv A, Julian-Reynier C, Cambrosio A (2006). A new clinical collective for french cancer genetics. a heterogeneous mapping analysis. *Science Technology Human Values* 31(4): 431-464.
- Duan L and Xu LD (2012). Business intelligence for enterprise systems: a survey. *industrial informatics. IEEE Transactions* 8(3):679-687.
- Elbashir MZ, Collier PA, Sutton SG (2011). The role of organizational absorptive capacity in strategic use of business intelligence to support integrated management control systems. *The Accounting Review* 86(1):155-84.
- Garber JE and Offit K (2005). Hereditary cancer predisposition syndromes. *J Clin Oncol* 23(2): 276-292.
- Holland ML, Huston A, Noyes K (2009). Cost-effectiveness of testing for breast cancer susceptibility genes. *Value in Health* 12(2): 207-216.
- Horovitz DD de, Faria FVE, Dain S, Marques-de-Faria AP (2013). Genetic services and testing in Brazil. *J Community Genet* 4(3):355-375.
- Lawrence WF, Peshkin BN, Liang W, Isaacs C, Lerman C, Mandelblat JS (2001). Cost of genetic counseling and testing for BRCA1 and BRCA2 breast cancer susceptibility mutations. *cancer epidemiology, Biomarkers & Prevention* 10:475-481.
- Lindor NM, McMaster ML, Lindor CJ, Green MH (2008). Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes. *Journal of the National Cancer Institute Monographs* 38:1-93.
- Martins E (2001). *Contabilidade de custos: inclui o ABC*. [Cost accounting: includes the ABC]. São Paulo: Atlas, 388 pp.
- Meiser B, Gaff C, Julian-Reynier C, Biesecker BB, Esplen MJ, Vodermaier A, Tibben A (2006). International perspectives on genetic counseling and testing for breast cancer risk. *Breast Dis* 27:109-125.
- Melo DG and Sequeiros J (2012). The challenges of incorporating genetic testing in the unified national health system in Brazil. *Genet Test Mol Biomarkers* 16(7):651-655.
- Muenning P (2008). *Cost-effectiveness analysis in health: a practical approach*. 2nd ed. United States, 266 pp.
- Najafzadeh M, Marra CA, Lynd LD, Wiseman SM (2012). Cost-effectiveness of using a molecular diagnostic test to improve preoperative diagnosis of thyroid cancer. *Value in Health* 15:1005-1013.
- Schmidtke J and Cassiman JJ (2010). The euro gentest clinical utility gene cards. *Eur J Hum Genet* 18(9):1068.
- Toledo RA, Sekiya T, Longuini VC, Coutinho FL, Lourenço Junior DM, Toledo SP. (2012). Narrowing the gap of personalized medicine in emerging countries: the case of multiple endocrine neoplasias in Brazil. *Clinics, São Paulo* 67(Suppl 1):3-6.

Vieira TP, Sgardiolli IC, Gil-da-Silva-Lopes VL (2013). Genetics and public health: the experience of a reference center for diagnosis of 22q11.2 deletion in Brazil and suggestions for implementing genetic testing. *J Community Genet* 4(1):99-106.

Wang VW, Koh PK, Chow WL, Lim JF (2012). Predictive genetic testing of first degree relatives of mutation carriers is a cost-effective strategy in preventing hereditary non-polyposis colorectal cancer in Singapore. *Fam Cancer* 11(2):279-289.

Weitzel JN, Blazer KR, Macdonald DJ, Culver JO, Offit K (2011). Genetics, genomics, and cancer risk assessment: state of the art and future directions in the era of personalized medicine. *CA Cancer J Clin*; Aug 19 [epub ahead of print].

#### Internet Resources Section

Brasil (1990). Lei n. 8.010, de 29 de março de 1990 [Brazilian Law number 8010, March 29th, 1990]. Diário Oficial da União, Brasília. <http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/leis/ant2001/lei801090.html>. (26 de novembro de 2013)

Brasil (2004) Lei n. 10.964, de 28 de outubro de 2004. [Brazilian Law number 10.964, October 28th, 2004]. Diário Oficial da União, Brasília. <http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/leis/2004/lei10964.htm>. (26 de novembro de 2013)

Brasil (2009). Ministério da Saúde. Diretrizes Metodológicas: estudos de avaliação econômica de tecnologias em saúde [Ministry of Health. Methodologic Guidelines: economic evaluation studies of health Technologies]. Brasília. [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/avaliacao\\_economica\\_tecnologias\\_saude\\_2009.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/avaliacao_economica_tecnologias_saude_2009.pdf). (26 de novembro de 2013)

Ontario Cancer Genetics Network (2013). <https://www.cancercare.on.ca/cms/one.aspx?pageld=10051>. (26 de novembro de 2013)

Rede Nacional de Câncer Familiar (2009). Manual operacional. [National Familial Cancer Network, Brazil. Operational Manual] INCA, Ministério da Saúde. [http://www.inca.gov.br/cancer\\_familiar/docsgerais.asp?id=211](http://www.inca.gov.br/cancer_familiar/docsgerais.asp?id=211). (27 de novembro de 2013)

**Table 1 - Cost calculation for polymerase chain reaction (PCR) technique**

<b>PCR-polymerase chain reaction: 40 samples</b>			
<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>CostU\$</b>
Biologyst	hour	1	13.00
Glove	pair	1	0.21
Yellow tip 0-200 ul	unit	7	0.12
Colorless tip 0.5-10 ul without barrier	unit	40	0.67
Microtube 1.5 ml	unit	1	0.02
Microtube0.2ml	unit	40	1.52
dNTPs 10mM	ul	20	3.09
Forwardoligonucleotide20pmol	ul	20	3.07
Reverse oligonucleotide20pmol	ul	20	3.07
Platinum Taq DNA polymerase	ul	2	2.65
Sterile distilled waterfr c/1000 ml	ul	760	0.00
<i>Electrophoresis for 40 samples</i>	samples	40	21.34
<i>Gel staining for 40 samples</i>	samples	40	4.92
Losses (10%)			5.37
IndirectCosts			4.18
<b>Total for 40 samples</b>			<b>63.23</b>

(\*)Total cost of PCR for 40 samples, which in this case is considered equivalent to 100% use of the installed capacity; cost per sample is US\$ 1.58

**Table 2 - Change in costs (%) according to the use of available capacity**

<b>Technique</b>	<b>Available Capacity</b>		
	<b>70%</b>	<b>50%</b>	<b>30%</b>
Conventional PCR (per amplicon)	32.2	94.4	178.3
Whole blood DNA extraction (column kit) <sup>1</sup>	21.5	44.1	88.1
Whole blood DNA extraction (salting out) <sup>2</sup>	10.2	21.9	47.6
FFPE tissue DNA extraction (specific kit) <sup>3</sup>	12.4	24.8	49.6
Quantification of nucleic acids <sup>4</sup>	31.0	70.9	168.8
Gene rearrangement analysis by MLPA <sup>5</sup>	27.6	74.9	412.3
Amplicon purification for sequencing <sup>6</sup>	15.1	33.1	80.2
Sanger sequencing (per amplicon)	31.4	128.6	172.8
Microsatellite instability analysis <sup>7</sup>	28.0	69.7	181.1
Imunohistochemistry (panel of 4 antibodies)	0	0	0

Legend. PCR: polymerase chain reaction; DNA: Deoxyribonucleic acid; MLPA: Multiplex ligation probe amplification; (1) commercial kit GE; (2) commercial kit Puregene, Gentra; (3) commercial kit QIAgen; (4) using NanoDrop equipment; (5) MRC-Holland commercial kit; (6) using exo-sap method; (7) commercial kit Promega.

**Table 3 - Cost calculation for the complete analysis of the coding sequence of *BRCA* genes by Sanger sequencing using 100 % of installed capacity**

<b>HEREDITARY BREAST AND OVARY SYNDROMES MUTATION ANALYSIS IN <i>BRCA1</i> AND <i>BRCA2</i></b>		
<b>Technique</b>	<b>Amount</b>	<b>Total U\$</b>
Blood draw	1	2.21
Whole blood DNA extraction	1	11.85
Conventional PCR per amplicon	80	233.88
Amplicon purification for sequencing	80	49.65
Bidirectional sequencing and interpretation	160	1558.13
Report printing	1	0.90
<b>Total</b>		<b>1,856.61</b>
<b>One mutation</b>		<b>28,18</b>

## Supplementary Material

**Table S1 - DNA isolation from peripheral blood (Commercial column extraction kit – GE) for 12 samples (\*)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount **</b>	<b>Cost U\$</b>
Lab technician	hours	2	1911.50	180	21.24
Kit Blood Genomic	samples	12	641.59	250	30.80
Yellow tip 0-200 uL without barrier	unit	12	16.81	1000	0.20
Yellow tip0-200 uL with barrier	unit	12	57.52	1000	0.69
Tip 100-1000ul without barrier	unit	48	17.70	1000	0.85
Microtube 1,5 ml	unit	24	22.43	1000	0.54
Glove	unit	2	9.91	100	0.20
Wash Buffer Solution	reactions	24	3.50	250	0.34
Storage box for microtubes	tube	12	3.76	100	0.45
Losses 10%					5.53
Indirect costs					5.76
<b>Total for 12 samples</b>					<b>66.59</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>5.55</b>

(\*) 12 samples representing 100% of the capacity of centrifuge for microtubes. (\*\*) amount per package

**Table S2 - DNA isolation from peripheral blood (Commercial kit – GENTRA Puregene) for 16 samples**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Lab technician	hours	3	1911.50	180	14.10
Kit Gentra Puregene Qiagen	samples	16	2446.90	330	118.64
Yellow tip 0-200 ulwithout barrier	unit	16	16.81	1000	0.27
Tip 100-1000ul wihout barrier	unit	96	17.70	1000	1.70
Falcon tube 15 ml	unit	32	15.04	40	12.04
Microtube 1,5 ml	unit	16	22.43	1000	0.36
Isopropyl alcohol	ml	48	43.36	1000	2.08
Ethanol 95%	ml	24	29.20	1000	0.70
Glove	unit	2	9.91	100	0.20
Sterile distilled water 1000 ml	ml	24	0.88	1000	0.02
Storage box for microtubes	tube	16	3.76	100	0.60
Losses 10%					15.07
Indirect costs					5.76
<b>Total for 16 samples</b>					<b>171.53</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>10.72</b>

(\*)16 samples representing 100% of the capacity of centrifuge for Falcon tubes. (\*\*) amount per package



**Table S3 - DNA isolation from formalin fixed paraffin embedded tissue (Commercial kit PROMEGA) for 24 samples (\*)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Lab technician	hours	4	1911.50	180	42.48
Kit Magnesil Genomic Fixed Tissue System	reaction	24	589.16	100	141.40
Tube 1,5 ml	unit	24	22.43	1000	0.54
1 X Wash Buffer Solution	ul	7200	0.31	60000	0.04
Tube 0,5ml	unit	24	21.55	1000	0.52
Yellow tip 0-200 ul with barrier	unit	24	57.52	1000	1.38
Colorless tip 0-200 ul	unit	24	16.81	1000	0.40
Glove	unit	2	9.91	100	0.20
Storage box for tubes	unit	24	3.76	100	0.90
Losses 10%					18.79
Indirect costs					5.76
<b>Total for 24 samples</b>					<b>212.40</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>8.85</b>

(\*) 24 samples corresponds to 100% of the capacity of available magnetic rack in the center. Calculation for 12 patients with tumor and normal tissue. (\*\*) amount per package

**Table S4 - DNA quantification using the Nanodrop equipment for 100 samples (\*)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Lab technician	hours	1	1911.50	180	10.62
Cost of equipment	minutes	4	38.93	60	2.60
Colorless tip 0,5-10 ul	unit	115	15.93	1000	1.83
Kleenex box	unit	10	0.73	75	0.10
<b>Total for 100 samples</b>					<b>15.15</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>0.15</b>

(\*) 100 samples is an a priori defined amount. (\*\*) amount per package.

**Table S5 - MLPA (12 samples and 4 controls) (\*)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Biologist	hours	7	2600.14	200	91.00
SALSA MLPA kit 008 (~90 reações)	kit	16	2224.25	90	395.42
Microtube 1,5 ml	unit	3	22.43	1000	0.07
Microtube 0,5 ml	unit	1	21.55	1000	0.02
Microtube 0,2 ml	unit	32	37.88	1000	1,21
Tip 0,5 a 10 ul with barrier	unit	17	57.52	1000	0.98
Tip 0,5 a 10 ul without barrier	unit	34	16.81	1000	0.57
Tip 10-200 ul without barrier	unit	48	16.81	1000	0.81
Glove	unit	4	9.91	100	0.40
Analysis of Fragments	unit	16	5.31	1	84.96
Losses 10%					57.54
Indirect costs					5.76
<b>Total for 12 samples+ 4 controls</b>					<b>638.74</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>53.23</b>

(\*) 12 samples and 4 controls corresponds to 100% of the capacity of equipment. (\*\*) amount per package

Table S6 - PCR product purification for 96 samples (\*)

Material	Measure	Amount	Price U\$	Amount**	Cost U\$
Biologist	hours	1	2600.14	200	13.00
Exonuclease I	ul	24	229.20	250	22.00
Alkaline phosphatase	ul	24	153.98	500	7.39
Sterile distilled water 7 ml	ul	48	1.62	7000	0.01
Colorless tip 0,5-10 ul	unit	100	18.21	1000	1.82
Microtube 0,5 ml	unit	1	21.55	1000	0.02
Microtube 0,2ml	unit	96	37.88	1000	3.64
Tip 10-200ul without barrier	unit	3	16.81	1000	0.05
Glove	unit	1	3.50	50	0.07
Primer Forward 20pmol	ul	15,36	3.25	100	0.52
Primer Reverse 20pmol	ul	15,36	3.25	100	0.52
Losses 10%					4.90
Indirect costs					5.76
<b>Total for 96 samples</b>					<b>59.71</b>
<b>Total 1 sample</b>					<b>0.62</b>
<b>Primer Forward 20pmol/ul (solution 100ul)</b>					
Material	Measure	Amount	Price U\$	Amount**	Cost U\$
Biologist	hours	0,25	2600.14	200	3.25
Primer Forward (100pmol/ul)	ul	20	88.50	400	4.42
Sterile distilled water 1000 ml	ul	80	0.88	1000000	0.00
<b>Total</b>					<b>7.68</b>
<b>Primer Reverse 20pmol/ul (solution 100ul)</b>					
Material	Measure	Amount	Price U\$	Amount**	Cost U\$
Biologist	hours	0,25	2600.14	200	3.25
Primer Reverse (100pmol/ul)	ul	20	88.50	400	4.42
Sterile distilled water 1000 ml	ul	80	0.88	1000000	0.00
<b>Total</b>					<b>7.68</b>

(\*) 96 samples corresponds to 100% of the capacity of equipment. (\*\*) amount per package.

**Table S7 - Sanger sequencing 96 samples - unlabelled (\*)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Biologist	hours	4	2600.14	200.00	52.00
Eletroforese Capilar	reaction	1	237.24	1	237.24
Mix BigDye	reaction	1	162.77	1	162.77
Mix XTerminator	reaction	1	110.43	1	110.43
Interpretation by Biologist	hours	24	2600.14	200.00	312.02
Losses 10%					56.24
Indirect costs					5.76
<b>Total for 96 samples</b>					<b>936.46</b>
<b>Total 1 samples</b>					<b>9.75</b>
<b>Capillary electrophoresis - 96 samples</b>					
<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Cathode Buffer Container	race	1	183.65	4	45.91
Anode Buffer Container	race	1	131.00	4	32.75
Performance Optimized Polymer	race	1	236.30	4	59.08
Septa 96-Well	race	1	592.41	400	1.48
Capillary Array 50cm - 8 capilares	race	1	1791.99	20	89.60
Conditioning Reagent, 3500 Series	race	1	32.75	4	8.19
Glove without talc	pair	1	11.73	50	0.23
<b>Total</b>					<b>237.24</b>
<b>Labelling with BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit - 96 samples</b>					
<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
BigDye (100 reactions) 1ul for sample	microliters	96	1276.54	800	153.19
BigDye Buffer (5X) 2 ul for sample	microliters	192	0.00	1000	0.00
Sterile distilled wate 1 L, 4 ul for sample	microliters	384	0.88	1000000	0.00
Yellow tip 0-200 ul	unit	3	8.85	1000	0.03
Colorless tip 0,5-10 ul	unit	96	18.21	1000	1.75
MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate	unit	1	92.06	20	4.60
Glove without talc	pair	1	11.73	50	0.23
MicroAmp Optical Adhesive Covers	unit	1	297.02	100	2.97
<b>Total</b>					<b>162.77</b>
<b>Purification with BigDye XTerminator Purification Kit - 96 samples</b>					
<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
XTerminator Solution 10 ul for sample	microliters	960	2260.26	20000	108.49
Sam Solution 45 ul for sample	microliters	4320	0.00	90000	0.00
Yellow tip 0-200 ul	unit	192	8.85	1000	1.70
Glove without talc	pair	1	11.73	50	0.23
<b>Total</b>					<b>110.43</b>

(\*) 96 samples corresponds to 100% of the capacity of equipment. (\*\*) amount per package. (\*\*\*)

**Table S8 - Microsatellite instability (MSI) – (94 samples + 2 controls)**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount **</b>	<b>Cost U\$</b>
Biologist	horas	3	2600.14	200	39.00
Microtube 0,5 ml	unidade	1	21.55	1000	0.02
Microtube 0,2 ml	unidade	96	37.88	1000	3.64
White Tip 0,5 a 10 ul	unidade	100	16.81	1000	1.68
Kit MSI Analysis System (~90 reactions)	reações	96	2109.29	90	2249.91
Enzima Ampli Taq Gold	ul	14,4	243.36	50	70.09
Glove	unidade	2	9.91	100	0.20
Analysis of Fragments	unidade	96	5.31	1	509.73
Print report		47	0.90	1	42.42
Losses 10%					291.67
Indirect costs					5.76
Fixed Cost Matrix MSI paciente/month					0.05
<b>Total for 94 samples + 2 controls</b>					<b>3214.18</b>
<b>Total for 1 sample</b>					<b>33.48</b>

(\*) 96 samples corresponds to 100% of the capacity of equipment. (\*\*) amount per package.

**Table S9 - Immunohistochemistry panel – 4 antibodies against MMR proteins, per patient**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount *</b>	<b>Cost U\$</b>
Lab technician	hours	0.5	1911.50	180	5.31
Coverslip	unit	4	2.24	100	0.09
Blade	unit	4	2.58	100	0.10
MLH1	microliters	0.8	4.02	1	3.21
MSH2	microliters	0.8	4.02	1	3.21
MSH6	microliters	0.8	5.34	1	4.27
PMS2	microliters	0.8	3.62	1	2.90
Histotain	microliters	0.8	1.91	1	1.53
Dab	microliters	0.8	0.77	1	0.62
Polymer	microliters	0.04	0.66	1	0.03
He	unit	1	4.42	1	4.42
Interpretation	unit	5	83.63	1	83.63
Losses 10%					10.93
Indirect costs					5.76
<b>Total</b>					<b>126.01</b>

(\*) amount per package.

**Table S10 - Preparation of formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissue for scraping before****DNA extraction**

<b>Material</b>	<b>Measure</b>	<b>Amount</b>	<b>Price U\$</b>	<b>Amount**</b>	<b>Cost U\$</b>
Blade preparation	unit	2	2.21	1	4,42
Microdissected by a pathologist	minute	6	14.63	60	1.46
Microtube 1,5 ml	unit	2	13.72	1000	0,03
Scalpel blade 24	unit	2	0.49	1	0,97
<b>Total</b>					<b>6.89</b>



Table S11 - Summary Available Capacity

	100% Available Capacity				70% Available Capacity				50% Available Capacity				30% Available Capacity			
	Total U\$	Samples	1 Unit U\$		Total U\$	Samples	1 Unit U\$	%	Total U\$	Samples	1 Unit U\$	%	Total U\$	Samples	1 Unit U\$	%
PCR amplification	63.24	40	1.58		58.42	28	2.09	32.0	61.32	20	3.07	93.9	53.14	12	4.43	180.1
DNA isolation – whole blood GE column	66.59	12	5.55		53.93	8	6.74	21.5	47.97	6	7.99	44.1	41.76	4	10.44	88.1
DNA isolation –whole blood Puregene	171.53	16	10.72		144.71	11	13.16	10.2	116.43	8	14.55	21.9	88.15	5	17.63	47.6
DNA isolation -FFPE tissue	212.40	24	8.85		159.17	16	9.95	12.4	132.57	12	11.05	24.8	105.95	8	13.24	49.6
DNA quantification (nanodrop)	15.15	100	0.15		13.89	70	0.20	31.0	12.94	50	0.26	70.9	12.21	30	0.41	168.8
Reporting	0.90	1	0.90		0.90	1	0.90	0.0	0.90	1	0.90	0.0	0.90	1	0.90	0.0
MLPA	4,472.74	84	53.23		3,328.10	49	67.92	27.6	2,08.09	28	93.15	74.9	1,909.45	7	272.78	412.3
PCR product purification	59.71	96	0.62		48.39	66	0.73	15.1	40.69	48	0.85	33.1	32.14	28	1.15	80.2
Sanger sequencing	6,555.19	22	9.75		6,009.85	469	12.81	31.4	7,491.65	336	22.30	128.6	5,109.15	192	26.61	1728
MSI	22,499.28	672	33.48		20,098.15	469	42.85	28.0	19,085.22	336	56.80	69.7	18,071.46	192	94.12	181.1
Immunohistochemistry panel	126.01	1	126.01		126.01	1	126.01	0,0	126.01	1	126.01	0,0	126.01	1	126.01	0.0
FFPE tissue preparation for DNA extraction-MSI	6.89	1	6.89		6.89	1	6.89	0,0	6.89	1	6.89	0,0	6.89	1	6.89	0.0

**ARTIGO 3:****Comparison of multiple genotyping methods for the identification of the cancer predisposing founder mutationp. R337H in *TP53***

Mariana Fitarelli-Kiehl <sup>1,2</sup>

Gabriel de Souza Macedo <sup>1,2</sup>

Rosane Paixão Schlatter <sup>3</sup>

Patricia Koehler-Santos <sup>4</sup>

Ursula da Silveira Matte <sup>1,4,5</sup>

Patricia Ashton-Prolla <sup>1,2,5</sup>

Juliana Giacomazzi <sup>2,5</sup>

<sup>1</sup> Post-Graduate Program in Genetics and Molecular Biology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>2</sup> Genomic Medicine Laboratory, Experimental Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>3</sup> Post-Graduation and Research Group (GPPG), Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>4</sup> Molecular and Protein Analysis Unit, Experimental Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>5</sup> Department of Genetics, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

**RUNNING TITLE:** Methods for *TP53*-p.R337H genotyping.

**CORRESPONDING AUTHOR:**

Patricia Ashton-Prolla, MD, PhD

Laboratório de Medicina Genômica, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350

Porto Alegre, RS, Brazil, 90035-903

Telephone: +55 51 3359.7661

Fax number: +55 51 3359.8761

e-mail: pprolla@hcpa.ufrgs.br

**Abstract**

Germline mutations in the *TP53* gene are associated to Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-Like Syndromes, characterized by increased predisposition to early-onset cancers. In Brazil, the prevalence of the *TP53*-p.R337H germline mutation is exceedingly high in the general population and in cancer-affected patients, probably as result of a founder effect. Several genotyping methods are used for the molecular diagnosis of LFS/LFL, however Sanger sequencing is still considered the gold standard. We compared performance, cost and turnaround time of Sanger sequencing, PCR-RFLP, real-time TaqMan PCR and HRM in the p.R337H genotyping. The performance was determined by analysis of 95 genomic DNA samples and results were 100% concordant for all methods. Sequencing was the most expensive method followed by TaqMan, RFLP and HRM. The overall cost of HRM increased with the prevalence of positive samples, since confirmatory sequencing must be performed when a sample shows an abnormal melting profile, but remained lower than all other methods when the mutation prevalence was less than 2.5%. Sequencing had the highest throughput and the longest turnaround time, while TaqMan showed the lowest turnaround and hands-on times. All methodologies studied are suitable for the detection of p.R337H and the choice will depend on the application and clinical scenario.

**Keywords:** *TP53*-p.R337H. RFLP. TaqMan. HRM. Sanger Sequencing.

## Introduction

Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-Like Syndromes (LFS/LFL; OMIM# 151623) are autosomal dominant disorders characterized by increased predisposition to multiple early-onset cancers caused by germline mutations in the TP53 gene (Malkin et al., 1990). In Europe and North America, germline TP53 mutations occur in approximately 1 in 5,000 live births (Lalloo et al., 2006; Gonzalez et al., 2009). In Brazil, a specific germline TP53 mutation, p.R337H (c.1010G>A; exon 10, also known as p.Arg337His), has been described at high frequency not only in the general population of Southern Brazil but also in different cohorts of patients with cancer. Carrier frequencies of 1:300 have been reported in the Brazilian States of Paraná (newborn screening program) and Rio Grande do Sul (women enrolled in a breast cancer screening cohort) (Palmero et al. 2008; Custodio et al. 2013). Among breast cancer-affected women unselected by family history of cancer, p.R337H has been described at a frequency of up to 8.6%, and reached 12.1% in women diagnosed with BC at or before age 45 (Giacomazzi et al., 2013; Cury, Ferraz, Silva, 2014; Giacomazzi et al., 2014). In children with adrenocortical or choroid plexus carcinomas, the same alteration has been reported at a frequency of 90% (Ribeiro et al., 2001; Achatz et al., 2007; Seidinger et al., 2011). Thus, the prevalence of this mutation in the general population and in cancer-affected patients in Brazil is exceedingly high, probably due to a founder effect (Garritano et al., 2010), classifying it as the most common germline TP53 mutation ever described in any population. In addition to compulsory testing for the mutation in the State of Paraná since 2005, some investigators have suggested that any woman diagnosed with premenopausal breast cancer (especially when associated with a positive family

history of breast cancer) in Southern Brazil should be screened for p.R337H (Garritano et al., 2010; Euhus and Robinson 2013; Giacomazzi et al., 2014).

Several genotyping methods have been proposed and are routinely used in clinical practice for the molecular diagnosis of LFS and LFL. Gene sequencing, however, is still considered the gold standard diagnostic method for identification of germline mutations in genes with high allelic heterogeneity, such as TP53. However, it is still relatively expensive and laborious and requires extensive automation, instrumentation and data interpretation. Thus, to interrogate presence of a single mutation, alternative and less expensive site-specific testing strategies could be used. Among these, PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction followed by Restriction Fragment Length Polymorphism analysis), a traditional genotyping method, requires that the sequence variation under study generates or abolishes a restriction enzyme recognition site (Narayanan 1991). After PCR amplification, the resulting DNA fragment is digested by one or more specific endonucleases that recognize restriction sites, resulting in fragments of different sizes that are then resolved by gel electrophoresis. Although this technique does not require sophisticated instruments, it is laborious and fully manual, which limits the number of analyses that can be performed in each experiment. Allelic discrimination using real-time TaqMan® PCR, is another mutation-specific diagnostic method which combines real-time PCR amplification and detection into a single step. Each TaqMan® genotyping assay consists of two allele-specific TaqMan® MGB probes containing distinct fluorescent dyes and a PCR primer pair for amplifying the sequence of interest. Cleavage of the fluorogenic probes during amplification liberates reporter dyes and its fluorescent signals indicate the allele(s) present in each sample (Livak, 1999). Finally, high-resolution DNA melting analysis (HRM) was introduced in the early 2000's as a simple

and inexpensive method for genotyping and mutation scanning (Wittwer et al., 2003). HRM is a closed-tube mutation screening method that requires no post-PCR processing of the samples and uses specific saturation dyes that fluoresce only in the presence of double stranded DNA. After real-time PCR amplification, the fragment's melting pattern is generated by monitoring the fluorescence over a temperature range. Homozygous, heterozygous and wild type samples are distinguished according to their melting profile and melting temperatures ( $T_m$ ). In contrast with PCR-RFLP and TaqMan assays, however, HRM is a screening method which interrogates mutations in a given PCR-amplified DNA region, but it does not allow, in most cases, precise identification of the mutation – a second, confirmation step such as DNA sequencing must be employed for definitive mutation diagnosis (Reed, Kent, Wittwer, 2007).

In this study, we compare the performance and cost of these four different diagnostic approaches in the identification of the founder Brazilian mutation TP53-p.R337H.

## **Material and Methods**

### **Subjects**

DNA samples from ninety-five p.R337H carriers and non-carriers identified in previous research studies from our laboratory (IRB protocols 08-022 e 08-080, GPPG/HCPA), were included in this study. All individuals had consented to TP53 genotyping for diagnostic purposes and signed an informed consent.

## DNA isolation and quantification

Genomic DNA was isolated from 200 µl whole blood using the Illustra™ Blood Genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare, UK), according to the manufacturer's instructions. DNA concentration and purity were determined using the Nano Drop 1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA).

## TP53-p.R337H genotyping

**(a) Sanger DNA Sequencing** – *TP53* exon 10 sequencing involves PCR amplification of exon 10, purification of PCR fragments, cycle sequencing and purification of sequencing products. PCR was performed using primers and conditions previously described (primer sequences and PCR conditions are available at URL: IARC TP53 Database, 2015; Petitjean et al., 2007) and then treated with 10 U of Exonuclease I and 0.5 U of Shrimp Alkaline Phosphatase (Fermentas), and incubated at 37°C for 30 minutes and at 80°C for 15 minutes. Cycle sequencing was performed using Big Dye Terminator kit version 3.1 (Applied Biosystems, USA) and the extension products were purified with Big Dye X Terminator Purification Kit (Applied Biosystems, USA) according to the manufacturer's instructions. Sequencing products were analyzed on a 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Sequencing data visualization and sequence alignment were done with Chromas v2.0 and CLC Main Workbench (CLC Bio, DK) softwares, respectively;

**(b) PCR-RFLP assay** – PCR (*TP53* exon 10) was performed according to previously published protocols (Petitjean et al. 2007). PCR products were

cleaved with *HhaI* at 37°C for 2h and then resolved in 3% agarose gels stained with GelRed™ (Biotium, USA). Resulting fragments were: 238 bp (homozygous mutant, AA genotype), 238 bp, 146 bp and 92 bp (heterozygote, GA genotype) and 146 bp and 92 bp (homozygous wild-type, GG genotype);

**(c) Real-time TaqMan PCR** – Custom made allele-specific TaqMan® probes were used (Applied Biosystems, USA; Assay ID TP53R337H; AHB JWZJ). Real-time PCR reactions were done in a final volume of 12.5 µl, containing 20 ng of genomic DNA, 1X TaqMan Universal PCR Master Mix and 1X Custom TaqMan R337H Genotyping Assay. Cycling conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 10 minutes, 40 cycles at 92°C for 15 seconds and 60°C for 1 minute in a StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA). Real-Time PCR software v.2.2.2 was used for allelic discrimination;

**(d) High Resolution Melting (HRM)** – HRM analysis was performed using the StepOne™ Real-Time PCR System according to the manufacturer's recommendations. Reactions were carried out in a final volume of 10 µl, containing 20 ng of genomic DNA, 0.3 µM of each primer and 1X MeltDoctor™ Master Mix (Applied Biosystems, USA). Primers used for exon 10 amplification were published previously (Bastien et al. 2008). Cycling conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 10 minutes, 40 cycles at 95°C for 15 seconds, 57°C for 30 seconds and 60°C for 30 seconds. After denaturation of the PCR products at 95°C for 10 seconds, HRM melting curve data were obtained by continuous fluorescence acquisition from 60 to 95°C with a ramp rate of 0.3%. Melting curves were analyzed with the High Resolution Melt Software v3.0.1 (Applied Biosystems, USA). Since HRM is a mutation screening



method, whenever an abnormal melting curve was identified, Sanger sequencing was performed to identify the specific sequence alteration.

### Quality Control

Wild type and mutant p.R337H DNA samples, identified from previous research studies and genotyped by Sanger sequencing in two independent blood samples, were included in each run for assurance and quality control purposes (Table 1). All RFLP, TaqMan and HRM analyses were performed in duplicates and Sanger sequencing was bidirectional. All analyses were blinded with respect to the status of previous genotyping results. Three investigators reviewed all genotyping results independently.

### Cost analysis

We used the system of absorption cost analysis based on the technical protocols, from which tables were set out in Excel software considering consumables, costs with laboratory personnel, direct and indirect costs associated with the laboratory infrastructure, and losses defined a priori at 10% (Mahony et al., 2009). The costs of consumables were calculated including reagents and supplies, according to updated prices, in local currency (Gonçalves, Zac, Amorim, 2009). Personnel-related costs included estimates of labor hours and salary-related taxes in Brazil. Indirect costs were estimated through the Management Information System (Business Intelligence) of the institution. They included indirect labor costs (employee benefits including occupational medicine), air conditioning, cleaning, building maintenance, security, elevator and electrical power (Ferreira-Da-Silva et al. 2012). Costs were calculated considering 100% use of the installed capacity per run for each of the genotyping

techniques performed, according to the equipment available (Table 1). We have not considered costs of acquisition of the equipment, assuming that the infrastructure needed for all of the genotyping methods is already available in a given laboratory. Also, it is important to note that “maximum capacity” was considered for a given type (model) of equipment and may change with different equipment models (i.e. for HRM we have considered maximum capacity of use in a thermal cycler of 48 wells. Estimates may differ if a 96-well equipment is used). For the cost analyses performed here we have used the equipment available in our center. The total cost of TP53-p.R337H analysis by each method includes all steps necessary to obtain results, including DNA isolation, quantification, all steps of each genotyping method and professional labor cost for sample handling and result interpretation.

Considering that HRM is a mutation screening method and direct DNA sequencing must be performed to confirm the sequence alteration if the melting profile of a given sample differs from that of WT controls, we calculated the HRM costs to analyse 100 patients, in different scenarios of mutation prevalence. For each possible mutation frequency (0 to 100%), in addition to HRM, we considered costs of Sanger sequencing of the minimal estimated proportion of samples that would have an abnormal melting profile, according to the mutation prevalence in each scenario. A single DNA isolation and quantification step was considered for each individual analysed, as summarized in Figure 1.

## Turnaround and hands-on time analysis

To establish turnaround times, we considered the total time to perform all steps of each genotyping method using 100% of the installed capacity per run, including handling, reactions, incubations, centrifugations and interpretation of results. The hands-on time was a fraction of turnaround, comprising the hands-on steps in which an employee needs to be fully dedicated to the activity, i.e. sample handling and direct interpretation of the results.

## Results

To verify the performance of PCR-RFLP, real-time TaqMan PCR and HRM for p.R337H genotyping, genomic DNA isolated from 95 peripheral blood samples was processed by all three methods and results compared to those obtained by Sanger sequencing. Among the 95 samples analyzed, 64 non-carriers (GG genotype, wild-type homozygotes), 30 p.R337H heterozygotes (GA genotype) and 1 p.R337H homozygote (AA genotype) were identified. Results were 100% concordant with sequencing using all three methods. Representative images of results obtained with the different methodologies are shown in Figure S1.

Costs of each technique were done by an administrator (RS) and are depicted in Table 2 and Figure 1. Direct sequencing was the most expensive method followed by real-time TaqMan PCR, RFLP and HRM. HRM was the least expensive technology, with a cost of R\$18.84 per patient tested, 2.83 fold less than DNA sequencing. However, it is important to note that this cost does not include the confirmatory sequencing step, needed when an abnormal melting curve is identified. The throughput of each platform used, number of controls included in each run, as well as turnaround

and hands-on times needed for genotyping with all methods are summarized in Table 1.

We also assessed costs of all four genotyping strategies taking into account different scenarios of mutation prevalence. Since HRM analysis requires a sequencing step when samples show abnormal melting profiles, there is an increment of overall cost of HRM as the prevalence of positive samples increases. The other three techniques have the same overall cost for a given sample set, independent of mutation prevalence. The costs of genotyping with HRM followed by sequencing (when needed) were lower than all other methods only when the expected mutation prevalence was less than 2.5%, were equal to TaqMan when mutation frequency in a given sample set was nearly 18%, and equal to sequencing only when the expected mutation frequency was at 83.5% (Figure 2 and Table S1).

## **Discussion**

The mutant p.R337H founder allele has been found at a high frequency in patients diagnosed with tumors of the LFS/LFL spectrum (such as adrenocortical, choroid plexus and breast carcinomas) and also in the general population of Southern and Southeastern Brazil (Malkin et al., 1990; Ribeiro et al., 2001; Laloo et al., 2006; Achatz et al., 2007; Palmero et al., 2008; Garritano et al., 2010; Seidinger et al., 2011; Giacomazzi et al., 2013; Cury et al., 2014; Giacomazzi et al., 2014). This scenario, of a highly prevalent germline mutation in a specific geographic region, is not unusual and has been described for many genetic disorders worldwide (Ewald et al., 2011; Antczak et al., 2013; Pinheiro et al., 2013). In these situations, the use of robust (reliable) and at the same time affordable mutation detection techniques is essential.

In the present study, we compared the performance characteristics and costs of four distinct genotyping techniques commonly used to detect the p.R337H founder mutation. Each method has its particular advantages and disadvantages, but genotyping results obtained with all four techniques were fully concordant, demonstrating that all of them can be reliably used for p.R337H detection. However, our results demonstrate that cost, turnaround and hands-on times can vary significantly with different methods and a careful analysis should be done in determining which genotyping method is most adequate, depending on the infrastructure available, application and clinical scenario. It is important to emphasize that, as mentioned previously, we have not considered costs of acquisition of the equipment. We considered that there is significant diversity among institutions that could have influenced these costs (i.e. some institutions benefit from tax exemption incentives and others not) and also recognize that Brazilian laboratories often use core facilities for diagnosis in their institutions, which eliminates the necessity of equipment acquisition.

In our analysis and with our laboratory setup, Sanger sequencing had the highest throughput when compared to other methods, but had the longest turnaround time and the highest cost (single patient analysis, 2.83 fold increase in relation to the least expensive procedure). Sanger sequencing requires advanced instrumentation, but the entire process is semi-automated, and both the laboratory protocols and result interpretation require significant hands-on dedication time. Despite these limitations, Sanger sequencing by capillary electrophoresis is still considered the gold standard in single gene mutation analysis in many centers and has been used in clinical genetic testing for many years. It is a robust, highly reproductive approach ideal for identification of mutations in a given DNA sequence, without necessity of previous interrogation of a specific mutation.

HRM, on the other hand is a mutation screening method, also widely used in clinical diagnostics, but it requires confirmation of genotype with a second method whenever a melting abnormality is identified. Several studies validated HRM for analysis of germline TP53 mutations using different sample types and always demonstrating high sensitivity (81-100%) and specificity (83-99%) (Krypuy et al. 2007; Bastien et al. 2008; Garritano et al. 2009). In the present study, sensitivity and sensibility of HRM analysis reached 100%, probably due to the use of high quality DNA obtained from leukocytes and to the short amplicon length used (87 bp). Compared to the other techniques assessed here, HRM had the lowest cost per patient, with a turnaround of nearly 5 hours, offering a convenient closed-tube method to assess the presence of single-base sequence variations. However, good laboratory practice recommends that amplicons with altered melting profiles be sequenced to identify which specific mutation or polymorphism is present, since different heterozygotes may produce similar melting curves. Thus, HRM is clearly suitable for mutation screening in populations with lower mutation prevalence (in the case of analyses directed to one single mutation) or with less disease-associated variants (in the case of mutation screening of an entire gene) (Li et al., 2011). In this study, we demonstrate that HRM analysis is cheaper than any of the other methods used when the predicted mutation prevalence in a given sample set is less than 2.5%, and less expensive than TaqMan or DNA sequencing when the estimated mutation prevalence reaches close to 18%. Thus, in Brazil, where the prevalence of p.R337H has been reported for several different sample sets, HRM would be an excellent strategy for mutation screening in the general population (mutation prevalence reported at 0.3% in a newborn screening program) and could also be considered in women with breast cancer (mutation

prevalence up to 8%, depending on age at cancer diagnosis) along with other methods in this second group (Custodio et al., 2013; Cury et al., 2014; Giacomazzi et al., 2014).

Real-time TaqMan PCR, on the other hand, had the lowest turnaround and hands-on times in our study and has the great advantage of allowing simultaneous amplification and allelic discrimination in about 3 hours, without any further manual steps. However, as HRM, it had a low throughput in our study, due the 48 wells real-time platform used and the need of performing reactions in duplicates, which both increase the overall time of analysis for large sample sets. TaqMan has a lower cost than Sanger sequencing and HRM when the expected mutation prevalence in the study population is above 18% (i.e. in some families with phenotypic criteria for Li-Fraumeni or Li-Fraumeni-like syndrome). For these situations and especially when results are needed quickly it is an excellent diagnostic approach.

Finally, PCR-RFLP showed reasonable costs and has the important advantage of minimal requirements in terms of investment in instrumentation. In addition, genotyping can be easily done by visualization of restriction fragments by gel electrophoresis, for which no specific software is needed. The most important disadvantage of RFLP, perhaps, is that it is a relatively time-consuming method, consisting of several sequential, and mostly not automated steps. In general, however, it is considered a simple, inexpensive and accurate method for genotyping, useful in small research studies and for laboratories that do not have advanced infrastructure or have limited financial resources.

## **Conclusion**

In this study we compared performance, cost and turnaround time of Sanger sequencing, PCR-RFLP, real-time TaqMan PCR and HRM in the detection of a cancer predisposing founder mutation, TP53-p.R337H. This strategy, and results obtained here can be applied to other sequence variants associated with genetic disorders in high risk populations.

We conclude that multiple methodologies are suitable for the detection of TP53-p.R337H and genotyping results obtained in this study with these different strategies were fully concordant. The method of choice to be used in a given scenario will depend on the available laboratory infrastructure, acceptable time for result reporting and especially estimated mutation prevalence in the sample set to be analyzed.

## **Acknowledgments**

MFK was supported by a fellowship from CNPq (Brazil). The study was supported in part by grants from GlaxoSmithKline Oncology (Ethnic Research Initiative Grant Award 2009), U.K.; CNPq, Brazil (grant 307779 2009-2); FAPERGS-PPSUS (grants 09/0103-0 and 002/2013), FAPERGS PRONEX (grant 10/0051-9), and Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG 08080), Brazil.



## References (formatar)

- Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, Martel-Planche G, Lopes A, Rossi BM, Ashton-Prolla P, Giugliani R, Palmero EI, Vargas FR. (2007) The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. *Cancer Lett* 245:96–102. doi: 10.1016/j.canlet.2005.12.039
- Antczak A, Kluźniak W, Wokołorczyk D, Kashyap A, Jakubowska A, Gronwald J, Huzarski T, Byrski T, Deogonekbniak T, Masojć B. (2013) A common nonsense mutation of the BLM gene and prostate cancer risk and survival. *Gene* 532:173–176. doi: 10.1016/j.gene.2013.09.079
- Bastien R, Lewis TB, Hawkes JE, Quackenbush JF, Robbins TC, Palazzo J, Perou CM, Bernard PS (2008) High-throughput amplicon scanning of the TP53 gene in breast cancer using high-resolution fluorescent melting curve analyses and automatic mutation calling. *Hum Mutat* 29:757–764. doi: 10.1002/humu.20726
- Cury NM, Ferraz VE, Silva WA (2014) TP53 p.R337H prevalence in a series of Brazilian hereditary breast cancer families. *Hered Cancer Clin Pract* 12:8. doi: 10.1186/1897-4287-12-8
- Custodio G, Parise GA, Kiesel Filho N, Komechen H, Sabbaga CC, Rosati R, Grisa L, Parise IZ, Pianovski MA, Fiori CM. (2013) Impact of neonatal screening and surveillance for the TP53 R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors. *J Clin Oncol* 3:1-9. doi: 10.1200/JCO.2012.46.3711
- Euhus DM and Robinson L (2013) Genetic predisposition syndromes and their management. *Surg Clin North Am* 93:341-362. doi: 10.1016/j.suc.2013.01.005
- Ewald IP, Izetti P, Vargas FR, Moreira MA, Moreira AS, Moreira-Filho CA, Cunha DR, Hamaguchi S, Camey SA, Schmidt A. (2011) Prevalence of the BRCA1 founder mutation c.5266dupin Brazilian individuals at-risk for the hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Hered Cancer Clin Pract* 9:12. doi: 10.1186/1897-4287-9-12
- Ferreira-da-Silva AL, Ribeiro RA, Santos VCC, Elias FTS, d'Oliveira ALP, Polanczyk CA (2012) Diretriz para análises de impacto orçamentário de tecnologias em saúde no Brasil. *Cad Saude Publica* 28:1223-1238. doi: 10.1590/S0102-311X2012000700002
- Garritano S, Gemignani F, Palmero EI, Olivier M, Martel-Planche G, Le Calvez-Kelm F, Brugieres L, Vargas FR, Brentani RR, Ashton-Prolla P. (2010) Detailed haplotype analysis at the TP53 locus in p.R337H mutation carriers in the population of southern Brazil: evidence for a founder effect. *Hum Mutat* 31:143–150. doi: 10.1002/humu.21151
- Garritano S, Gemignani F, Voegelé C, Nguyen-Dumont T, Le Calvez-Kelm F, Silva D de, Lesueur F, Landi, Tavtigian SV (2009) Determining the effectiveness of high resolution melting analysis for SNP genotyping and mutation scanning at the TP53 locus. *BMC Genet* 10:5. doi: 10.1186/1471-2156-10-5
- Giacomazzi J, Graudenz MS, Osorio CABT, Koehler-Santos P, Palmero EI, Zagonel-Oliveira M, Michelli RAD, Neto CS, Fernandes GC, Achatz MIWS. (2014) Prevalence of the TP53 p.R337H mutation in breast cancer patients in Brazil. *PLoS One* 9(6):1-7. doi: 10.1371/journal.pone.0099893

- Giacomazzi J, Koehler-Santos P, Palmero EI, Graudenz MS, Rivero LF, Lima E, Pütten ACK, Hainaut P, Camey SA, Michelli RD. (2013) A TP53 founder mutation, p.R337H, is associated with phyllodes breast tumors in Brazil. *Virchows Arch* 463:17-22. doi: 10.1007/s00428-013-1439-8
- Gonçalves MA, Zac JI, Amorim CA de. (2009) Hospital strategic management: the use of costing process in. *J Belo Horiz* 8:161-179.
- Gonzalez KD, Buzin CH, Noltner KA, Gu D, Li W, Malkin D and Sommer SS. (2009) High frequency of de novo mutations in li-fraumeni syndrome. *J Med Genet* 46:689-693. doi: 10.1136/jmg.2008.058958
- Krypuy M, Ahmed AA, Etemadmoghadam D, Hyland SJ, Fazio A de, Fox SB, Brenton JD, Bowtell DD, Dobrovic A, Group AOCS. (2007) High resolution melting for mutation scanning of TP53 exons 5-8. *BMC Cancer* 7:168. doi: 10.1186/1471-2407-7-168
- Laloo F, Varley J, Moran A, Ellis D, O'dair L, Pharoah P, Antoniou A, Hartley R, Shenton A, Seal S. (2006) BRCA1, BRCA2 and TP53 mutations in very early-onset breast cancer with associated risks to relatives. *Eur J Cancer* 42:1143-1150. doi: 10.1016/j.ejca.2005.11.032
- Li BS, Wang XY, Ma FL, Jiang B, Song XX, Xu AG (2011) Is High Resolution Melting Analysis (HRMA) accurate for detection of human disease-associated mutations? A meta analysis. *PLoS One* 9(9):1-6. doi: 10.1371/journal.pone.0028078
- Livak KJ (1999) Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genetic Analysis - Biomolecular Engineering*. pp. 143-149.
- Mahony JB, Blackhouse G, Babwah J, Smieja M, Buracond S, Chong S, Ciccotelli W, O'Shea T, Alnakhli D, Griffiths-Turner M. (2009) Cost analysis of multiplex PCR testing for diagnosing respiratory virus infections. *J Clin Microbiol* 47:2812-2817. doi: 10.1128/JCM.00556-09
- Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni Junior JF, Nelson CE, Kim DH, Kassel J, Gryka MA, Bischoff FZ, Tainsky MA. (1990) Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 250:1233-1238.
- Narayanan S. (1991) Applications of restriction fragment length polymorphism. *Ann Clin Lab Sci* 21:291-296.
- Palmero EI, Schüler-Faccini L, Caleffi M, Achatz MI, Olivier M, Martel-Planche G, Marcel V, Aguiar E, Giacomazzi J, Ewald IP. (2008) Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. *Cancer Lett* 261:21-25. doi: 10.1016/j.canlet.2007.10.044
- Petitjean A, Mathe E, Kato S, Ishioka C, Tavtigian SV, Hainaut P, Olivier M. (2007) Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Hum Mutat* 28:622-629. doi: 10.1002/humu.20495
- Pinheiro M, Pinto C, Peixoto A, Veiga I, Mesquita B, Henrique R, Lopes P, Sousa O, Fragoso M, Dias L. (2013) The MSH2 c.388\_389del mutation shows a founder effect in Portuguese Lynch syndrome families. *Clin Genet* 84:244-250. doi: 10.1111/cge.12062

Reed GH, Kent JO, Wittwer CT. (2007) High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. *Pharmacogenomics* 8:597-608. doi: 10.2217/14622416.8.6.597

Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, Lafferty AR, DeLacerda L, Rabin M, Cadwell C, Sampaio G. (2001) An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9330-9335. doi: 10.1073/pnas.161479898

Seidinger AL, Mastellaro MJ, Paschoal Fortes F, Godoy Assumpção J, Aparecida Cardinali I, Aparecida Ganazza M, Correa Ribeiro R, Brandalise SR, Dos Santos Aguiar S, Yunes JA. (2011) Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in Southeast Brazil. *Cancer* 117:2228-2235. doi: 10.1002/cncr.25826

Wittwer CT, Reed GH, Gundry CN, Vandersteen JG, Pryor RJ (2003) High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen. *Clin Chem* 49:853-860. doi: 10.1373/49.6.853

### **Internet Resources**

IARC TP53 Database. [http://p53.iarc.fr/Download/TP53\\_DirectSequencing\\_IARC.pdf](http://p53.iarc.fr/Download/TP53_DirectSequencing_IARC.pdf). (23 de março de 2015)

**Table 1 - Features of each *TP53*-p.R337H genotyping method**

	<b>Sanger Sequencing<sup>a</sup></b>	<b>PCR- RFLP<sup>b</sup></b>	<b>Real-time TaqMan PCR<sup>c</sup></b>	<b>HRM<sup>c</sup></b>
Negative controls (GG genotype)	0	1	1	3
Positive controls (GA or AA genotypes)	0	2	2	2
Patient samples tested per run <sup>d</sup>	47	27	22	21
Throughput (full capacity)	96	62	48	48
Total turnaround time (hours) <sup>e</sup>	37	13.5	3	5.25
Hands-on time (hours)	13.5	3	1	1.25

<sup>a</sup> 96-well plates

<sup>b</sup> 2X 31-well gels

<sup>c</sup> 48-well plates.

<sup>d</sup> bidirectional sequencing, duplicate analyses for all other methods

<sup>e</sup>does not include DNA isolation and quantification.

**Table 2 - Costs of the *TP53*-p.R337H analysis for one patient**

<b>Description</b>	<b>HRM<sup>c</sup></b>	<b>PCR-RFLP</b>	<b>Real-time TaqMan PCR</b>	<b>DNA Sequencing</b>
<b>Total cost (R\$)<sup>a</sup></b>	18.84	19.86	26.28	53.29
<b>Fold increase of cost<sup>b</sup></b>	1.00	1.05	1.39	2.83

<sup>a</sup> includes DNA isolation, quantification, all steps of each method and professional labor cost for handling and result interpretation

<sup>b</sup> in relation to the least expensive method

<sup>c</sup> HRM is a screening method and not a direct genotyping method as PCR-RFLP, TaqMan and Sanger sequencing (see Figure 2 for further details on additional cost).

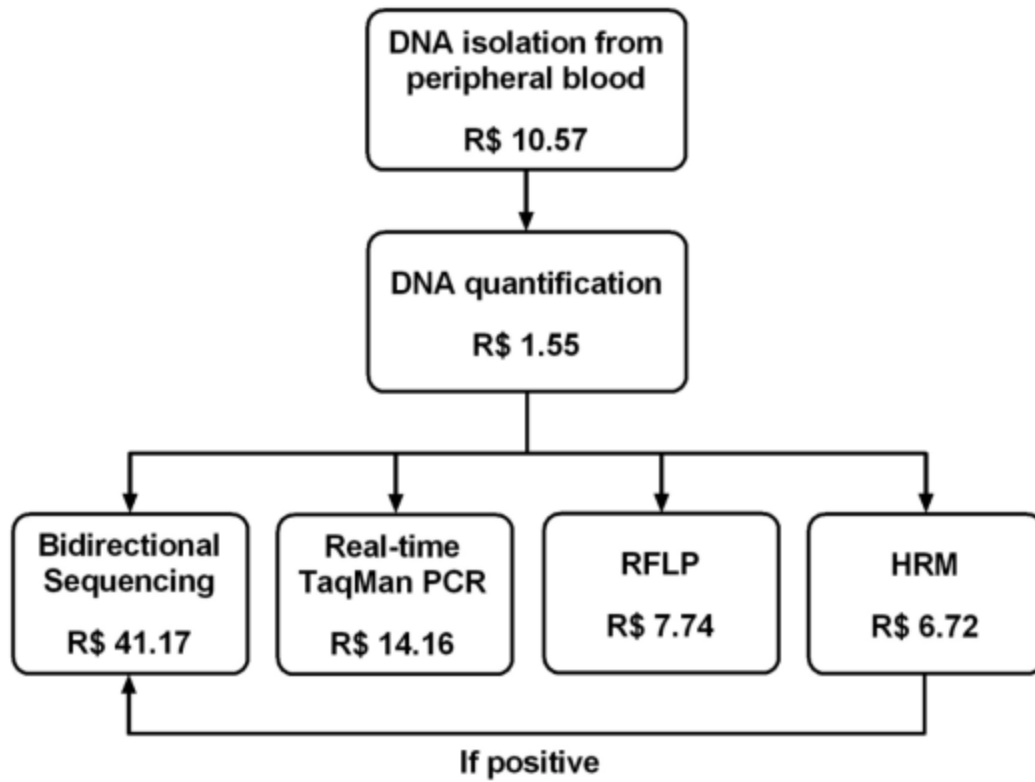


Figure 1 - Costs of each analytical step of *TP53*-p.R337H genotyping by different methods for one patient

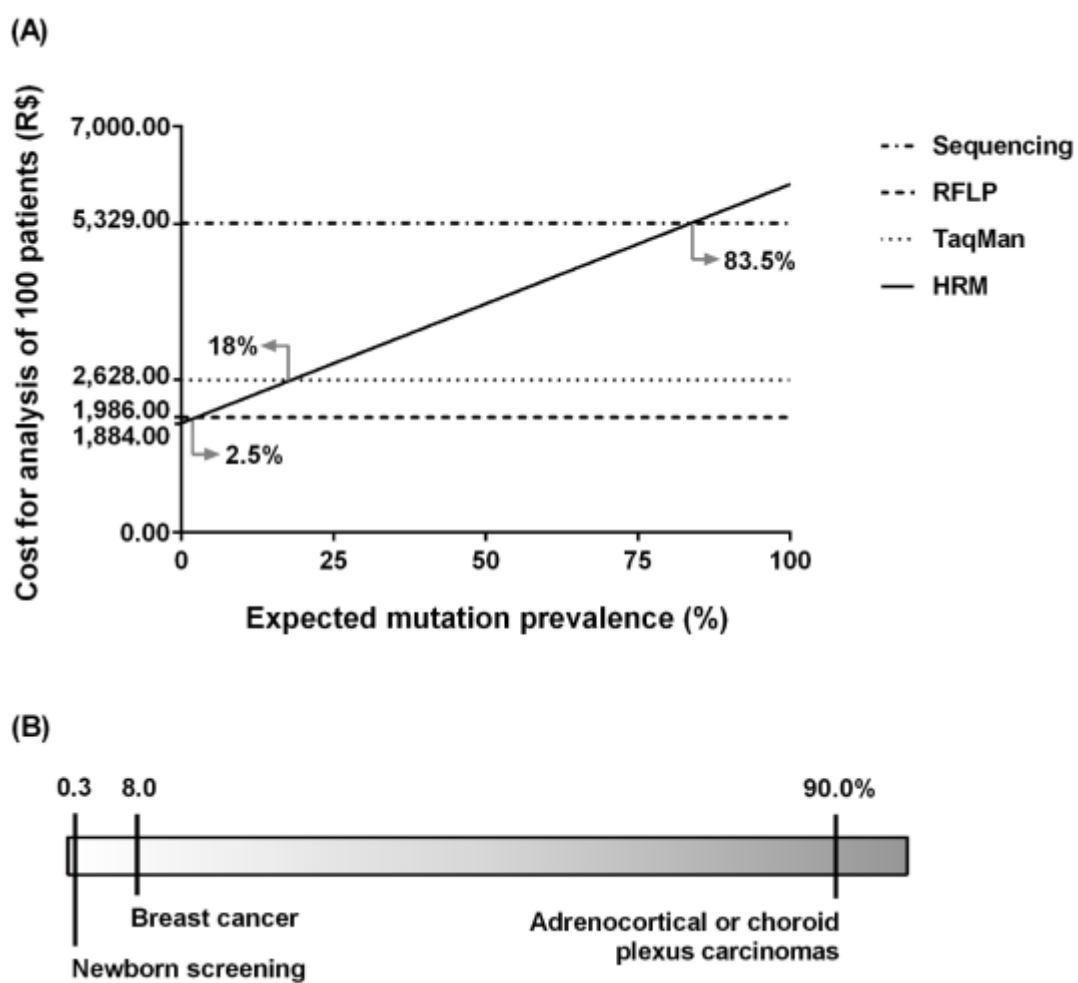


Figure 2 - (A) Cost variation of HRM analysis for screening of the *TP53*-p.R337H mutation according to estimated mutation prevalence, in comparison to costs of Sanger sequencing, real-time TaqMan PCR and PCR-RFLP. (B) Expected mutation prevalence scenario

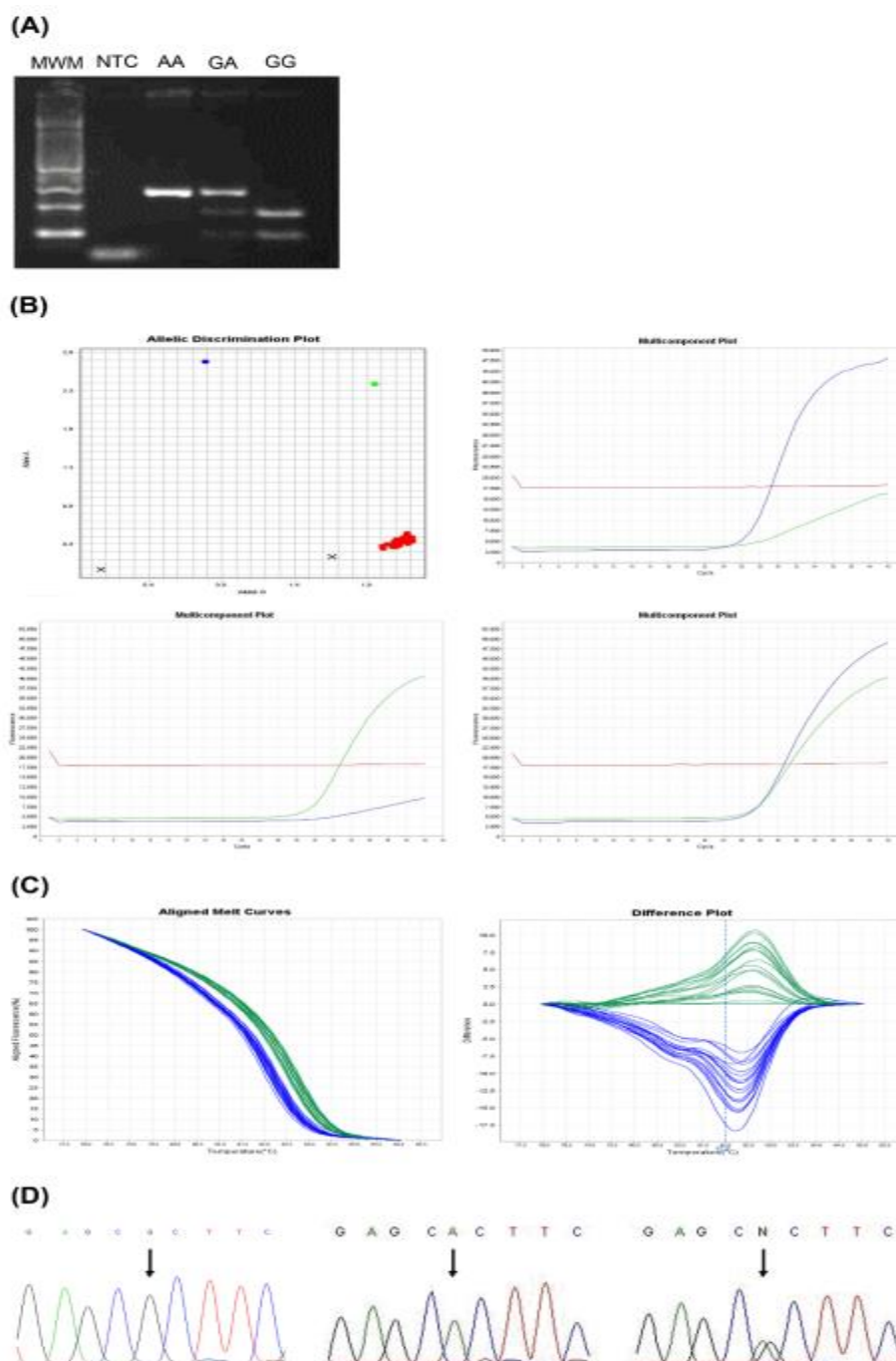
## Supplementary Material

Table S1 - Costs of *TP53*-p.R337H genotyping for 100 patients according to expected mutation prevalence

Method	Costs in different mutation prevalence scenarios (R\$)			
	0.3%	2.5 %	18.1%	83.7%
DNA Sequencing	5,329.00	5,329.00	5,329.00	<b>5,329.00</b>
PCR-RFLP	1,986.00	<b>1,986.00</b>	1,986.00	1,986.00
Real-time TaqMan PCR	2,628.00	2,628.00	<b>2,628.00</b>	2,628.00
<b>HRM followed by DNA sequencing<sup>a</sup></b>	<b>1,896.35</b>	<b>1,986.92</b>	<b>2,629.17</b>	<b>5,329.92</b>

<sup>a</sup>sequencing from same DNA sample (no new DNA extraction) – cost of R\$ 41.17 for patient





**Figure S1 - Representative images of results obtained with the different genotyping methodologies employed for *TP53*-p.R337H analysis**

**(A) PCR-RFLP.** DNA was amplified by PCR to generate a 238 pb product encompassing exon 10 and flanking splice sites. RFLP analysis was performed using the *HhaI* restriction enzyme. (MWM = molecular weight marker; NTC = no template control; AA, GA, GG = p.R337H genotypes).

**(B) Real-time TaqMan PCR.** Allelic discrimination plot (upper left); Multicomponent plot of a mutant homozygote, AA (upper right); Multicomponent plot of a wild-type homozygote GG (lower left); Multicomponent plot of a heterozygote GA (lower right).

**(C) HRM analysis of *TP53* exon 10.** Fluorescence-normalized melting curves (left panel) and difference plot (right panel) from DNA samples isolated from leukocytes. Homozygous wild type allele (GG) are represented in green lines and heterozygotes (GA) are shown in blue lines.

**(D) Direct Sanger sequencing of exon 10 encompassing the mutation *TP53*-p.R337H (arrow).** Electropherogram of a wild-type homozygote GG (left panel), mutant homozygote (middle panel) and a heterozygous p.R337H carrier (right panel).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de avaliações econômicas em saúde no Brasil encontra limitações inerentes ao próprio sistema de gestão em saúde. A principal delas se refere à indisponibilidade de sistemas informatizados de custos que permitam o cálculo de custos com rigor metodológico.

Nos estudos que compõem esta tese, foram utilizadas duas abordagens diferentes de valoração de custos considerando o nível de complexidade do tema. Nos estudos dos custos dos testes de diagnóstico molecular e de genotipagem de mutações foram calculados os custos incorridos na realização do exame considerando os custos diretos e indiretos. Esta abordagem pôde ser utilizada em função da análise se referir a exames diagnósticos, ou seja, o exame como intervenção única e este ser realizado em um laboratório exclusivo para atividades de pesquisa da oncogenética o que permitiu o acompanhamento e a coleta de dados de uso de recursos e valoração de custos em tempo real. A utilização da capacidade instalada como fator direcionador de custos nos laboratórios colabora na definição de estratégias públicas para disponibilizar o serviço ao usuário e ao mesmo tempo, otimizar os recursos escassos em saúde.

É importante destacar que este estudo apoiou a definição de políticas públicas demandadas junto ao Ministério da Saúde para rastreamento precoce de cânceres hereditários. Em janeiro de 2014, a Agência Nacional de Saúde Suplementar incluiu como obrigatório, o rastreamento e tratamento de 29 doenças genéticas hereditárias, dentre as quais, o câncer de mama e ovário (Síndrome HBOC) e Síndrome de Lynch.

Por outro lado, no estudo de cardiopatia isquêmica, o elevado número de variáveis a serem consideradas na análise do custo da doença, as interrelações entre diferentes unidades de cuidados que atendem o paciente, a influência das comorbidades, o período de acompanhamento superior a 10 anos e o elevado número de pacientes que atenderam os critérios de inclusão tornaram metodologicamente complexo o cálculo dos custos reais incorridos. Optou-se, então, a abordagem de custos como a disposição de pagar do principal financiador, o SUS, no entendimento de que mesmo não sendo os custos reais, eles representam um custo aproximado e atendem os pressupostos de disponibilidade e confiabilidade de dados.

Um ponto a ser destacado é que os dados obtidos neste estudo refletem a realidade de um hospital universitário de excelência, com Acreditação Internacional pela *Joint Commission International* e de um ambulatório especializado em cardiopatia isquêmica com protocolos assistenciais implantados no ambulatório e na internação para o atendimento destes pacientes, o que reflete a necessidade de novos estudos para verificação da generalização dos dados.

No conjunto dos estudos realizados, acreditamos que estes estudos contribuirão para o desenvolvimento de avaliações econômicas completas e para o debate das políticas públicas em saúde.