

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
HOSPITAL MATERNO INFANTIL PRESIDENTE VARGAS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Betielli Gonçalves Forgiarini

**DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DE 17-OHP EM AMOSTRAS DE
SANGUE SECO EM PAPEL FILTRO DE RECÉM NASCIDOS DO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL**

Porto Alegre
novembro 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
HOSPITAL MATERNO INFANTIL PRESIDENTE VARGAS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DE 17-OHP EM AMOSTRAS DE
SANGUE SECO EM PAPEL FILTRO DE RECÉM NASCIDOS DO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL**

Trabalho de Diplomação apresentado ao Departamento de Análises da
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como
parte dos requisitos para obtenção do título de Farmacêutica

Betielli Gonçalves Forgiarini

Orientadora: Prof. Dr^a Simone Martins de Castro
Coorientadora: MD Cristiane Kopacek

Porto Alegre
novembro 2015

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista Archives of Endocrinology and Metabolism (Anexo I) na qualidade de "Artigo Original". A versão em língua inglesa será elaborada após as correções e sugestões da banca revisora.

Dedico este trabalho a meus pais, Paulo Fernando Forgiarini e Maria Elisabeth Gonçalves Forgiarini, que sempre me apoiaram e especialmente durante o período do meu Curso de Graduação estiveram ao meu lado.

“Educação não transforma o mundo. A Educação transforma pessoas, e pessoas transformam o mundo”.

Paulo Freire

Determinação dos valores de referência de 17-OHP em amostras de sangue seco em papel filtro de recém-nascidos do estado do Rio Grande do Sul.

Betielli Gonçalves Forgiarini¹, Mayara Jorgens Prado², Cristiane Kopacek², Juliana Longo Macedo², Luciana Amorim Beltrão², Simone Martins de Castro^{1,2}

¹Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

² Laboratório de Triagem Neonatal, Serviço de Triagem Neonatal - Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, RS, Brasil

Autor correspondente:

Prof. Dra. Simone Martins de Castro.

Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Avenida Ipiranga, 2752, sala 304B, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 90.610-000

E-mail: simonecastro13@gmail.com

RESUMO

Objetivo: O presente trabalho tem como objetivo estabelecer os valores de referência da dosagem do hormônio 17-hidroxiprogesterona (17-OHP), utilizado na triagem neonatal de Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) pelo serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado do Rio Grande do Sul (RS).

Metodologia: Imunofluorimetria de fase sólida por tempo resolvido foi o método utilizado para dosar 17-OHP, em sangue fixado em papel filtro (S&S 903®), dosado no GSP®, oriundos de recém nascidos participantes do programa do Teste do Pezinho e que foram triados entre o 3º e o 7º dia de vida. Foram analisados todos os resultados de 17-OHP dos RN triados para HAC no período de maio de 2014 a abril de 2015. Os valores de referência, atualmente utilizados no serviço, são preconizados pelo Ministério da Saúde. Foram calculados os percentis P99, P99,5 e P99,8 na população selecionada. Sensibilidade e especificidade foram calculadas, tanto para o percentil atualmente utilizado no serviço, como para os novos. Os recém-nascidos foram estratificados por peso.

Resultados e Discussão: Os valores dos pontos de corte variam entre os programas de triagem neonatal. Os níveis para 17-OHP encontrados na nossa amostra nos percentis P99, P99,5 e P99,8 diferem dos valores preconizados pelo Ministério da Saúde. Um dos maiores problemas enfrentados na triagem neonatal para HAC é o elevado número de casos falso-positivos (FP). Para minimizar esse transtorno, é de extrema importância e recomendando que cada laboratório estabeleça seu próprio valor de referência para os níveis de 17-OHP. Este foi o primeiro estudo que avaliou a incidência de HAC na população do Estado do RS.

Conclusão: As diferenças encontradas em relação a outros estudos indicam uma diversidade cultural e étnica na população brasileira, sendo necessários estudos populacionais específicos para cada região.

Palavras-chave: hiperplasia adrenal congênita; percentil; triagem neonatal, RS, 17-OHP.

INTRODUÇÃO

Hiperplasia adrenal congênita (HAC) é um erro inato do metabolismo dos esteroides adrenais, de herança autossômica recessiva, que ocasiona deficiência em uma das enzimas necessárias para a biossíntese do cortisol a partir do colesterol (1). A falta deste hormônio leva à hipersecreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, através do mecanismo de *feedback* negativo, resultando em hiperestimulação das glândulas adrenais.

Nos diversos grupos étnicos, as deficiências enzimáticas mais comuns em HAC são: 21-hidroxilase (devido a mutações no gene *CYP21A2*) e 11-beta-hidroxilase (*CYP11B1*). A deficiência na enzima 21-hidroxilase é encontrada em 90 % a 95 % de todos os casos (2), e está envolvida na rota de síntese do cortisol e aldosterona. Nessa deficiência há um bloqueio da “cascata enzimática” na conversão do 17-OHP em 11-desoxicortisol e da progesterona em 11-desoxicorticosterona, os quais são precursores para cortisol e aldosterona, respectivamente (3), levando assim a um acúmulo, principalmente do 17-OHP. Este metabólito é então desviado para uma maior síntese de andrógenos, com ação virilizante. A síntese de mineralocorticoides pode ou não estar diminuída, dependendo do grau de comprometimento da 21-hidroxilase (4).

A apresentação clínica pode se expressar por insuficiência de glicocorticoide (deficiência na síntese de cortisol), insuficiência de mineralocorticoide (deficiência na síntese de aldosterona), excesso de andrógenos (desvio da rota de síntese hormonal com aumento de síntese dos precursores androgênicos) ou ainda por insuficiência de andrógenos. Dessa forma, os pacientes podem ser classificados em três formas clínicas: forma clássica perdedora de sal (FPS), forma clássica virilizante simples (FVS) e forma não clássica (FNC). Em relação às formas clássicas, 75% dos bebês afetados são FPS (3, 5).

A sintomatologia depende das vias hormonais comprometidas e de diversos fatores, tais como: deficiência de outros esteróides adrenais, acúmulo dos precursores proximais ao

Determinação dos valores de referência de 17-OHP em amostras de sangue seco em papel filtro de recém nascidos do estado do Rio Grande do Sul

bloqueio enzimático, desvio do metabolismo adrenal para outras vias metabólicas e grau de deficiência enzimática (6). Na deficiência concomitante de glicocorticoides e mineralocorticoides ocorrerá crise adrenal com extrema desidratação, com hiponatremia, hipotensão, hiperpotassemia, podendo levar à morte nas primeiras semanas de vida se não tratada – forma perdedora de sal (FPS) (7). No caso de estar preservada a via mineralocorticoide, o quadro clínico será relacionado à hipersecreção de androgênios, levando a androgenização da genitália externa – forma virilizante (FVS).

A incidência global da forma clássica da HAC é 1 em 15.000 nascidos vivos, conforme determinado por programas de triagem neonatal (1,8). Poucos são os dados sobre a prevalência da forma não clássica, pois nem sempre é diagnosticada, sendo descrita uma incidência de aproximadamente 1:500 nascimentos (9). Nessa apresentação clínica as manifestações podem aparecer na infância, adolescência ou idade adulta (10).

HAC é uma doença que acomete ambos os sexos. Por não ser uma doença ligada ao sexo, a frequência esperada é de 1 menino para 1 menina afetada. No entanto, estudos demonstram que meninos, muitas vezes não são susceptíveis ao diagnóstico clínico, sendo assim subdiagnosticados. (11).

Meninos portadores da FPS apresentam uma maior taxa de mortalidade, em relação às meninas, devido à falta de reconhecimento de sinais de insuficiência adrenal nesse sexo (2). Os efeitos da virilização em meninos com FVS normalmente são sutis, o que leva a um atraso no diagnóstico e um início de tratamento tardio. No sexo feminino, os efeitos virilizantes decorrentes do excesso de andrógenos durante a vida intrauterina, podem variar de uma forma leve, com clitoromegalia, a grave, com genitália externa bem masculinizada, podendo levar a uma atribuição errônea de gênero ao nascimento, com necessidade de correção cirúrgica posterior. Sem diagnóstico e tratamento precoces, ambos os sexos apresentarão virilização pós-natal, caracterizada por clitoromeglia, pubarca precoce, velocidade de crescimento aumentada e maturação óssea acelerada, resultando em baixa estatura final (7).

Como os sintomas das formas clássicas iniciam logo nas primeiras semanas de vida, o diagnóstico precoce é fundamental para início imediato do tratamento e assim evitar graves transtornos clínicos e o óbito. O tratamento, geralmente, é feito pela reposição dos hormônios não produzidos, o que gera a supressão do excesso de androgênios.

O Rio Grande do Sul (RS) incluiu a triagem para HAC na rede pública a partir de maio de 2014. O Serviço de Referência em triagem neonatal no Estado do RS (SRTN-RS) localiza-se no Hospital Materno Infantil Presidente Vargas (HMIPV) de Porto Alegre. Este serviço é composto por: unidades de coleta de todo o estado, um Laboratório de Triagem Neonatal, serviço de busca ativa e uma equipe multiprofissional no ambulatório responsável pelo atendimento, tratamento e acompanhamento das crianças.

A triagem da HAC tem como objetivo prioritário identificar o RN com risco de ser afetado pelas FPS e FVS o mais precocemente possível. O teste para o diagnóstico de HAC é feito inicialmente pela triagem neonatal, conhecido como “teste do pezinho” (12), em sangue seco em papel filtro, onde é dosado o metabólito 17-OHP, preferencialmente, do 3º ao 5º dia de vida do RN. Segundo o Ministério da Saúde (2010), valores alterados devem ser confirmados através de testes mais específicos, realizados em amostras de sangue periférico. De acordo com o Ministério da Saúde (2010), os valores de 17-OHP em neonatos dependem de fatores como: idade gestacional ao nascimento, idade de coleta do exame e peso de nascimento. Os valores de referência para o ponto de corte no rastreamento neonatal de HAC variam de 15 a 40ng/mL em diferentes laboratórios. O mais indicado é que estes valores sejam estratificados de acordo com o peso do bebê ao nascimento, diminuindo os casos de FP (2). Pelo exposto, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer os valores de referência estratificados por peso ao nascimento, em amostras de sangue seco em papel filtro dos RN triados pelos SRTN do Estado do RS.

MATERIAS E MÉTODOS

Delineamento e População:

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, no banco de dados do SRTN do Estado do RS. Foram analisados todos os resultados de 17-OHP dos RN triados no serviço para HAC, no período de maio de 2014 a abril de 2015. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do HMIPV e cumpre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde).

Metodologia:

Imunofluorimetria de fase sólida por tempo resolvido foi o método utilizado pelo Laboratório para dosar 17-OHP, em sangue seco em papel filtro (S&S 903®), coletado por meio de punção do calcanhar do RN e dosado com o kit GSP® (Neonatal 17 α -OH-progesterone kit- PerkinElmer). O intervalo de linearidade do teste compreende as concentrações de 0,9 até 229 ng/dL, expressos em equivalente sérico. As amostras foram coletadas no período de 3 a 30 dias, mas o período ideal é de 3 a 5 dias de vida do RN. As amostras foram coletadas nos Postos de Saúde, Hospitais e Maternidades dos municípios participantes do programa e encaminhadas ao laboratório de triagem neonatal o mais rápido possível.

Os valores de referência utilizados no serviço foram preconizados pelo Ministério da Saúde, os quais foram baseados em estudo piloto com a população de São Paulo (2). Estes valores de ponto de corte foram estabelecidos em RN com idade entre 2 a 7 dias de vida e foram classificados, de acordo com o peso do bebê ao nascimento, em quatro grupos: Grupo 1: RN com peso inferior ou igual a 1500 g; Grupo 2: RN com peso entre 1501 a 2000 g; Grupo 3: RN com peso entre 2001 a 2500 g e Grupo 4: RN com peso superior a 2500 g.

Foram inicialmente excluídos do estudo amostras sem valores de 17-OHP no banco de dados, e recoletas. Para os cálculos dos percentis foram selecionadas todas amostras dos RN coletadas com idade entre 3-7 dias de vida. Para os cálculos de sensibilidade e especificidade foram incluídas todas amostras cuja idade do bebê no momento da coleta se encontrava no período de 3-30 dias de vida.

Análise Estatística:

Os dados foram analisados pelo software StatisticalPackage for the Social Sciences (SPSS) versão 22.0 e pelo Programa Estatístico R. Foram calculados os percentis P99, P99,5 e P99,8 na população selecionada. Sensibilidade e especificidade foram calculadas para o percentil atualmente utilizado no serviço e para os novos percentis calculados a partir da população selecionada.

RESULTADOS

O estudo selecionou 112.715 RN, durante o período de maio 2014 a abril 2015, correspondendo ao primeiro ano de triagem para HAC na rede pública do Estado do RS. Para o cálculo dos percentis, foram excluídos os dados de 29.291 RN, totalizando a análise de 83.424 (74,01%) bebês.

A distribuição conforme o peso, o valor da mediana, os percentis P99; P99,5 e P99,8 da população estudada e o percentil atualmente utilizado no serviço (P99-SP) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores da mediana e percentis de 17-OHP(ng/mL), em papel filtro, ajustados conforme o peso ao nascimento, em uma amostra de RN do RS, no período de maio de 2014 a abril de 2015.

GRUPO	MEDIANA	P99 SP	P99 RS	P99,5 RS	P99,8 RS
G1: ≤ 1500 g n= 747	19,3	110,4	$\geq 230^*$	$\geq 230^*$	$\geq 230^*$
G2: 1501-2000 g n= 1246	7,6	43,0	67,9	96,9	141,0
G3: 2001-2500 g n= 4910	4,1	28,2	32,4	38,9	51,8
G4: > 2500 g n= 76521	3,0	15,1	9,9	12,0	17,4

Total 83424

Níveis de 17 OHP em soro equivalente.

P99SP: Percentil preconizado pelo Ministério da Saúde.

P99RS; P99,5RS; P99,8RS: valores dos percentis calculados para a população estudada.

* Limite máximo de linearidade do kit.

Valores de sensibilidade, especificidade e FP nos percentis calculados para toda população triada, no período de coleta de 3 a 30 dias, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados de sensibilidade, especificidade e FP nos diferentes percentis calculados para 17-OHP.

GRUPO	n	P99 SP	P99 RS	P99,5 RS	P99,8 RS
G1: ≤ 1500 g	1016	26 (2,6%)	4 (0,4%)	4 (0,4%)	4 (0,4%)
G2: 1501 - 2000 g	1633	67 (4,1%)	13 (0,8%)	6 (0,4%)	3 (0,2%)
G3: 2001 - 2500 g	6215	101 (1,6%)	56 (0,9%)	29 (0,5%)	10 (0,2%)
G4: > 2500 g	92067	280(0,3%)	1013 (1,1%)	488 (0,5%)	171 (0,2%)
TOTAL	100931	474 (0,5%)	1086 (1,1%)	527 (0,5%)	188 (0,2%)
SENSIBILIDADE		100%	100%	100%	83,50%
ESPECIFICIDADE		99,50%	98,90%	99,50%	99,80%

Usando os valores de ponto de corte de 17-OHP preconizados pelo Ministério da Saúde, encontramos 474 (0,5%) pacientes classificados como FP, em um ano de estudo. Para todos os bebês prematuros (G1-G3), houve uma redução na taxa de casos FP, usando os valores de 17-OHP calculados na população do RS, nos percentis P99, P99,5 e P99,8,

quando comparados com atual. No entanto, o número de FP aumentaria no grupo com peso superior a 2500 g em todos os percentis calculados, em relação ao atual ponto de corte, com exceção do P99,8.

Os RN com triagem neonatal positiva, exames séricos confirmatórios elevados (17-OHP, androstenediona, testosterona, sódio e potássio) e clínica sugestiva (virilização em meninas ou evidência de perda de sal em ambos os sexos) ou ionograma alterado, tiveram seu diagnóstico confirmado para HAC. A forma clássica de HAC foi diagnosticada em 8 casos (4 meninos e 4 meninas). A prevalência encontrada para o RS referente a 1 ano de triagem neonatal para HAC foi de 1: 14.089.

Não houve conhecimento de casos falso-negativos (FN) até o momento.

DISCUSSÃO

No ano de 2001, o Sistema Único de Saúde (SUS) instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Esse programa ampliou a triagem neonatal no Brasil e estabeleceu fases de implantação nos estados. No RS o Serviço de Referência e Triagem Neonatal (SRTN) localiza-se no Hospital Materno Infantil Presidente Vargas/Prefeitura Municipal de Porto Alegre. Na portaria nº 2.829, de 14 de dezembro de 2012, o Ministério da Saúde habilitou o SRTN-RS na Fase IV, ampliando para 6 doenças triadas, introduzindo a triagem da HAC. A justificativa para a inclusão da HAC no PNTN foi por ela ser uma doença relativamente frequente e potencialmente fatal. Seu diagnóstico precoce e início do tratamento o mais rápido possível reduzem morbimortalidade. A cobertura média anual do SRTN-RS é de aproximadamente 78% dos nascidos vivos do estado (13), sendo que, o restante é triado pela rede particular.

A partir de 1977, tornou-se possível o diagnóstico precoce da HAC por deficiência de 21-hidroxilase por meio da triagem neonatal, quando Pang et al. (14) descreveram uma

Determinação dos valores de referência de 17-OHP em amostras de sangue seco em papel filtro de recém nascidos do estado do Rio Grande do Sul

técnica de ensaio para a dosagem da 17-OHP a partir do sangue de RN colhido em papel-filtro. A dosagem da 17-OHP nos testes de triagem foi, inicialmente, realizada através de métodos de radioimunoensaio. Posteriormente, foi introduzido o método de imunofluorimetria, sendo atualmente a técnica mais utilizada na maioria dos laboratórios mundiais. As técnicas de imunofluorimetria e espectrometria de massa, disponíveis em nosso meio, apresentam boa sensibilidade e especificidade para triagem neonatal (15).

Os métodos de radioimunoensaio direto são muito susceptíveis a interferências, em especial com a 17 α -hidroxipregnenolona, elevando falsamente a 17-OHP. As reações cruzadas com o método imunofluorimétrico são muito menores do que com o radioimunoensaio (16). O kit GSP®, empregado no laboratório para dosagem de 17-OHP, apresenta uma baixa reação cruzada com outros hormônios, como 11-deoxicortisol, 17 α -pregnenolona, progesterona e outros (7).

Um dos maiores problemas enfrentados na triagem neonatal para HAC é o elevado número de casos FP. Vários estudos demonstraram que RN com baixo peso ao nascimento, gravemente enfermos ou prematuros podem apresentar níveis elevados de 17-OHP, sem que sejam necessariamente portadores de deficiência da 21-hidroxilase (15). Possíveis explicações para a elevação transitória da 17-OHP nesses pacientes seriam: imaturidade da função hepática, levando a uma diminuição do *clearance* metabólico da 17-OHP; aumento na produção da 17-OHP induzida pelo estresse, principalmente se a coleta da amostra for realizada nas primeiras 24 horas de vida; imaturidade das glândulas adrenais (15). Estas crianças devem ser rastreadas e acompanhadas até normalização dos níveis de 17-OHP, acarretando não somente custos para o sistema público, como também, uma grande ansiedade, principalmente aos pais, podendo induzir a diagnósticos errôneos, principalmente fora dos centros de referência. Para minimizar esse problema, é de extrema importância e recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio valor de referência para os níveis de 17-OHP, de acordo com o peso ao nascimento ou idade gestacional (2).

Os valores dos pontos de corte variam entre os programas de triagem neonatal. Os níveis para 17-OHP encontrados na nossa amostra nos percentis P99, P99,5 e P99,8 diferem dos valores preconizados pelo Ministério da Saúde para triagem para HAC. Os valores propostos de 17-OHP são maiores nos RN com peso inferior a 2500 g quando comparados ao percentil atualmente utilizado pelo serviço e, ocorre uma inversão de valores no grupo com peso superior a 2500g (Grupo 4), onde foram encontrados resultados menores, podendo ser essa uma causa do elevado número de FP nesse grupo. É nesse grupo que se encontra a maior parte da nossa população estudada. Uma das hipóteses que poderia justificar esse achado seria o uso indiscriminado de corticoides durante a gestação. O uso de corticoides com o intuito de induzir a maturação pulmonare assim reduzir as complicações neonatais associadas ao nascimento prematuro (17), pode suprimir os níveis de 17-OHP em neonatos devido a sua passagem transplacentária (18). Esta hipótese, poderia justificar a diminuição dos valores de 17-OHP, em bebês nascidos a termo em todos os percentis calculados para esse grupo de RN. O uso de corticoide pela mãe durante a gestação e o período gestacional não foram avaliados no nosso estudo. Outra hipótese que poderia justificar essa diferença é a diversidade da população triada em cada estado. O estudo piloto realizado com a população de SP recebeu todas as amostras de hospitais privados do Estado, diferindo da nossa população estudada, onde atendemos 100% da rede pública de saúde. Diferenças específicas de cada população poderiam gerar diferentes situações de estresse a que essas crianças poderiam estar sendo submetidas, justificando a diferença de valores encontrada.

Este foi o primeiro estudo que avaliou a incidência de HAC numa grande população do estado do RS. A incidência calculada em 1 ano de triagem no estado (1:14.089) aproximou-se mais com o descrito previamente no estado de Santa Catarina (1:14.967). A incidência para HAC varia de acordo com a etnia e a área geográfica. No geral, HAC afeta 1:10.000-15.000 RN no mundo todo (7). A população brasileira apresenta diferentes níveis

de miscigenação. Estudos de triagem mostraram uma incidência na forma clássica de HAC de 1:10.460, de 1:19.927, de 1:10.325 e de 1:14.967, nos estados de São Paulo (2), Minas Gerais (1, 19), Goiás(20) e Santa Catarina (7) respectivamente.

Também foi possível confirmar a relação de doentes entre homens e mulheres (1:1), conforme o esperado para doença autossômica recessiva.

A idade escolhida para calcular os percentis de nossa amostra foi de 3 a 7 dias, visto abranger o período ideal para coleta, preconizado pelo Ministério da Saúde. É neste período que há estabilização da função hormonal do RN e a possibilidade do diagnóstico e tratamentos precoces dos casos positivos. No nosso estudo, 74,01% dos RN realizaram a coleta do teste no período ideal.

Após análise de sensibilidade e especificidade nos diferentes percentis calculados, cabe ao serviço, decidir qual o percentil mais apropriado para se adotar no Estado. Os valores escolhidos pelo serviço devem possibilitar uma taxa de reconvocação aceitável em relação à prevalência da doença, sem perda de sensibilidade, ou seja, perda de casos positivos.

CONCLUSÃO

Uma vez selecionados novos percentis das dosagens de 17-OHP para a população de RN do estado do RS, serão necessários mais estudos do impacto destes novos valores na triagem neonatal para HAC. As diferenças encontradas com outros estudos demonstram uma diversidade cultural e étnica na população brasileira, sendo necessários estudos populacionais específicos para cada região.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram nenhum potencial conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. PEZZUTI, I. L. et al. A three-year follow-up of congenital adrenal hyperplasia newborn screening. **J Pediatr (Rio J)**, v. 90, n. 3, p. 300-7, 2014 May-Jun 2014. ISSN 1678-4782. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24560529> >.
2. HAYASHI, G. et al. Weight-adjusted neonatal 17OH-progesterone cutoff levels improve the efficiency of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 55, n. 8, p. 632-7, Nov 2011. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22218447> >.
3. SPEISER, P. W. et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 9, p. 4133-60, Sep 2010. ISSN 1945-7197. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20823466> >.
4. GADELHA, M. M. Hiperplasia Arenal Congênita: Revisão e Perfil dos Pacientes do Serviço de Endocrinologia Pediátrica do HRAS/SES/DF. 2003. 30f. **Monografia apresentada para conclusão de Residência Médica em Pediatria no HRAS**. Brasília.
5. SHARMA, R. ; SETH, A. Congenital Adrenal Hyperplasia: Issues in Diagnosis and Treatment in Children. **Indian J. Pediatr**, v. 81, n. 2, p. 178-185. Feb 2014.
6. NUNES, A. K. et al. Prevalence of disorders detected by newborn screening in Santa Catarina]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 57, n. 5, p. 360-7, Jul 2013a. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23896802> >.
7. NASCIMENTO, M. L. et al. Ten-year evaluation of a Neonatal Screening Program for congenital adrenal hyperplasia. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 58, n. 7, p. 765-71, Oct 2014. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25372587> >.

8. MUTHUSAMY, K. et al. Clinical review: Adult height in patients with congenital adrenal hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 9, p. 4161-72, Sep 2010. ISSN 1945-7197. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20823467>>.

9. CARVALHO, Tarcísio André Amorim de et al. CYP21 gene mutations in Brazilian patients with 21-hydroxylase deficiency from the Amazon region. **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo, v. 31, n.3, p. 626-631, 2008. ISSN 1678-4685.

10. LABARTA, J. I. et al. Childhood-onset congenital adrenal hyperplasia: long-term outcome and optimization of therapy. **JPediatr Endocrinol Metab**, v. 17 Suppl 3, p. 411-22, Mar 2004. ISSN 0334-018X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15134301>>.

11. NERMOEN, I. Congenital Adrenal Hyperplasia in Adults: Epidemiological, Genetic, Clinical and Endocrine Features of CYP21A2 Deficiency in Norway. Department of Endocrinology Faculty Division, Akershus University Hospital University of Oslo, Lørenskog, Norway. 2013. 106f. **Series of dissertations submitted to the Faculty of Medicine, University of Oslo** No. 1553 ISBN 978-82-8264-424-2.

12. SPEISER, P. W. Prenatal and neonatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. **Horm Res**, v. 68 Suppl 5, p. 90-2, 2007. ISSN 1423-0046. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18174718>>.

13. Ministério da Saúde / FNS /CNEPI/ Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos – SINASC. Datasus. Disponível em: <http://www.datasus.saude.gov.br>. Acesso em: 20 Outubro, 2015.

14. PANG, S.; CLARK, A.T.; FREEMAN, L.C. Microfilter paper method for 17 hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its application for rapid screening for congenital

adrenal hyperplasia. **J ClinEndocrinolMetab**, n: 45, p. 1003-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-45-5-1003>.

15. ALVES CA, JÚNIOR VB, TORRALES MB. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: considerations regarding the transient rise of the 17- hydroxyprogesterone. Triagem neonatal para Hiperplasia Adrenal Congênita: Considerações sobre a elevação transitória da 17-Hidroxiprogesterona. Revista Brasileira em Promoção da Saúde. **RBPS**, v 19.n.4,p.203-8.2006.ISSN 1806-1222. Disponível em [:http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=40819403](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=40819403)

16. CARDOSO, Cláudia B.M.A. et al .Triagem neonatal para hiperplasia adrenal congênita: experiência do estado do Rio de Janeiro.**ArqBrasEndocrinolMetab**, São Paulo , v. 49, n. 1,p. 112-119, Fev. 2005. ISSN 1677-9487.

17. NORDENSTRÖM, A. et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants.**Pediatrics**,v. 108, n. 4, p. E68, Oct 2001. ISSN 1098-4275. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11581476> >.

18. GATELAIS, F. et al. Effect of single and multiple courses of prenatal corticosteroids on 17-hydroxyprogesterone levels: implication for neonatal screening of congenital adrenal hyperplasia.**PediatrRes**,v. 56, n. 5, p. 701-5, Nov 2004. ISSN 0031-3998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15371568> >.

19. BARRA, C. B. et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. **RevAssocMedBras**, v. 58, n. 4, p. 459-64, 2012 Jul-Aug 2012. ISSN 0104-4230. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22930025> >.

20.SILVEIRA, E.L.; SANTOS, E.P.; BACHEGA, T.A.; NADER, I.vdN N.; GROSS, J. L. ; ELNECAVE, R.H. The actual incidence of congenital adrenal hyperplasia in Brazil may not be as high as inferred--an estimate based on a public neonatal screening program in the state of Goiás. **J PediatrEndocrinolMetab.** 2008; 21(5):455-60

ANEXO1: NORMAS DA REVISTA ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM

DISPONÍVEL EM: WWW.AEM-SBEM.COM/INSTRUcoes

INSTRUÇÕES PARA AUTORES**Informações gerais**

Estas instruções devem ser seguidas cuidadosamente a fim de se evitar atrasos no processamento do seu manuscrito.

Os manuscritos devem ser submetidos para a publicação apenas nos AE&M, e não podem ter sido publicados ou estar em análise para publicação de forma substancial em nenhum outro periódico, profissional ou leigo.

Os manuscritos para a edição online (que é obrigatória) devem ser enviados em inglês. Embora não seja obrigatório, também recomendamos que o manuscrito seja escrito em inglês para a edição impressa. Todos os manuscritos aceitos para publicação devem ser revisados por um revisor nativo de língua inglesa ou por um serviço de editoração científica; o certificado de revisão deve ser fornecido aos AE&M. Para este serviço, sugerimos as seguintes empresas: Voxmed Medical Communications, American Journal Experts ou PaperCheck. Os artigos que não estiverem em conformidade com estes requisitos serão devolvidos para os autores para que seja feitas as alterações necessárias antes da revisão formal.

Todas as submissões são avaliadas em profundidade pelos editores científicos. Os artigos que não estiverem em conformidade com os critérios gerais para publicação serão devolvidos aos autores sem uma revisão detalhada, normalmente em três a cinco dias. Os manuscritos que estiverem em conformidade serão enviados aos revisores (geralmente dois).

Categorias de artigos

Os relatos originais de pesquisa podem ser submetidos aos AE&M como Artigos Originais ou Comunicações Breves. As outras categorias de artigos estão descritas abaixo. Todos os manuscritos devem obedecer ao número máximo de palavras determinado para o texto principal de acordo com as definições abaixo; o número de palavras não inclui o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas. O número de palavras deve ser apresentado na página de título, junto com o número

de figuras e tabelas. O formato é semelhante para todas as categorias de manuscritos e está descrito em detalhes na seção "Preparação dos manuscritos".

Artigos originais

O Artigo Original é um relato científico dos resultados de pesquisas originais que não foram publicadas ou enviadas para publicação em outros periódicos (impresso ou eletrônico). O Artigo Original representa um trabalho clínico ou laboratorial substancial. Em geral, Artigos Originais não devem exceder 3600 palavras no texto principal, e não devem ter mais de seis figuras ou tabelas e mais de 35 referências.

Preparação do manuscrito

Formato Geral.

Todos os manuscritos devem ser apresentados com o texto em uma única coluna, de acordo com as diretrizes abaixo:

O manuscrito deve estar em formato de MS-Word.

Todo o texto deve ser apresentado em espaço duplo com margens de 2 cm em ambos os lados e fonte Times Roman ou Arial tamanho 11.

Todas as linhas devem ser numeradas ao longo de todo o manuscrito e o documento inteiro deve ter suas páginas numeradas.

Todas as tabelas e figuras devem ter título e devem ser colocadas depois do texto.

Os artigos devem estar completos, incluindo uma página de título, resumo, figuras e tabelas.

Os artigos que não tenham todo estes componentes serão colocados em espera até que o manuscrito seja completado.

Todas as submissões devem incluir:

Uma carta de apresentação requerendo a avaliação do manuscrito para publicação nos AE&M e quaisquer outras informações relevantes sobre o artigo.

Em outro ponto do formulário de submissão, os autores podem sugerir até três revisores específicos e/ou requerer a exclusão de até três outros.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Página de título
2. Resumo estruturado (ou sumário, para os relatos de caso)

3. Texto principal
4. Tabelas e Figuras, citadas no texto principal em ordem numérica
5. Agradecimentos
6. Declaração sobre financiamento, conflito de interesses ou quaisquer bolsas relacionadas com o artigo
7. Lista de referências

Página de título

A página de título deve conter as seguintes informações:

1. Título do artigo (declaração concisa do conteúdo principal do artigo).
2. Nomes completos de todos os coautores, com seus departamentos, instituições, cidade e país.
3. Nome completo, endereço de correspondência, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência.
4. Título abreviado com não mais de 40 caracteres para os cabeçalhos das páginas.
5. Até cinco palavras-chave ou frases adequadas para o uso em um índice. (recomendamos o uso de termos MeSH).
6. Número de palavras – excluindo a página de título, o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas.
7. Tipo de artigo.

Resumos estruturados

Todos os Artigos Originais, Comunicações Breves, Revisões e Relatos de Caso devem ser enviados com resumos estruturados de não mais que 250 palavras. O resumo deve ser independente e claro sem necessidade de referência ao texto, e deve ser escrito para o típico leitor do periódico. O resumo deve incluir quatro seções que mostrem as divisões do texto principal. Todas as informações que estejam no resumo devem aparecer no manuscrito. Devem ser usadas frases completas em todas as seções o resumo.

Introdução

O artigo deve começar com uma breve introdução que coloque o estudo em perspectiva histórica e que explique seu objetivo e sua importância.

Materiais e Métodos

Os Materiais e Métodos devem ser descritos e referenciados em detalhe suficiente para que outros pesquisadores possam repetir o estudo. Devem ser apresentados os fornecedores de hormônios, produtos químicos, reagentes e equipamentos. Para métodos modificados, apenas as modificações devem ser descritas.

Resultados e Discussão

A seção Resultados deve apresentar, de forma breve, os dados experimentais em texto, tabelas e /ou figuras. Veja abaixo os detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras.

A Discussão deve ter como foco a interpretação e significância dos achados, com comentários objetivos e concisos que descrevam a relação destes achados com outros estudos na área. A Discussão não deve repetir os Resultados.

Autoria

Os AE&M seguem as diretrizes de autoria e contribuição definidas pelo International Committee of Medical Journal Editors (www.ICMJE.org). Permite-se a autoria conjunta irrestrita e um máximo de dois autores para correspondência.

Os requerimentos uniformes para manuscritos submetidos a periódicos médicos declara que o crédito pelo autoria deve se basear apenas em contribuições substanciais:

1. à concepção e desenho ou a análise e interpretação dos dados.
2. à composição do artigo ou sua revisão crítica com relação ao conteúdo intelectual relevante.
3. à aprovação final da versão a ser publicada.

Todas estas condições devem ser respeitadas. O autor para correspondência é responsável por garantir que todos aqueles que contribuíram adequadamente sejam listados como autores, e que todos os autores tenham concordado com o conteúdo do manuscrito e sua submissão aos AE&M.

Conflitos de interesse

Deve ser incluída, no documento principal, uma declaração de conflito de interesse para todos os autores, colocada logo após o texto, na seção Agradecimentos. Se os autores não tiverem conflitos de interesse relevantes a serem declarados, isto também deve ser indicado na seção Agradecimentos.

Agradecimentos

A seção de agradecimentos deve incluir os nomes de todas as pessoas que contribuíram para o estudo mas não atenderam aos requerimentos necessários para a autoria. O autor para correspondência é responsável por informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos que ela foi incluída. Ele(a) também é responsável por fornecer a elas uma descrição da contribuição, de forma que estas pessoas saibam a atividade pela qual foram consideradas responsáveis. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso do seu nome. Estas informações são de responsabilidade do autor para correspondência.

Referências

As referências à literatura devem ser citadas em ordem numérica (entre parênteses) no texto, e devem ser listadas na mesma ordem numérica ao final do manuscrito, em uma ou mais páginas separadas. O autor é responsável pela exatidão das referências. O número de referências a serem citadas é limitado para cada categoria de artigo e está indicado acima.

Tabelas

As tabelas devem ser enviadas no mesmo formato do artigo (Word) e não em outro formato. Nota: não podemos aceitar tabelas em Excel no manuscrito. As tabelas devem ser autoexplicativas e os dados que contêm não devem ser duplicados no texto ou nas figuras. As tabelas devem ser construídas da forma mais simples possível e devem ser compreensíveis sem referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Pode-se apresentar uma descrição das condições experimentais junto com as notas no rodapé da tabela. As tabelas não podem simplesmente duplicar o texto ou as figuras.

Figuras e legendas

Todas as figuras devem ser numeradas. Tamanho da figura: O autor é responsável por fornecer imagens de tamanho adequado e cortadas corretamente, e com espaço adequado entre elas. Figuras coloridas serão reproduzidas em cores na edição online sem custo adicional. Os autores devem pagar a reprodução de figuras coloridas na edição impressa (o editor vai fornecer o orçamento no momento do aceite do manuscrito).

Fotografias

Os AE&M prefere publicar fotos de pacientes sem máscara. Recomendamos a todos os autores interessados que trabalhem com as famílias antes da submissão e abordem o assunto da permissão para revisão e possível publicação de imagens de pacientes. Se seu artigo contém QUALQUER imagem identificável de paciente ou outra informação de saúde confidencial, É OBRIGATÓRIA a permissão do paciente (ou do seu responsável ou representante legal) por escrito antes que o material específico circule entre os editores, revisores e funcionários para a possível publicação nos AE&M. Se for necessário identificar algum paciente, recomenda-se o uso de números (por exemplo, Paciente 1), ao invés de qualquer outro tipo de indicação, como iniciais.

Padronização das abreviaturas

Todas as abreviaturas devem ser imediatamente definidas depois de apresentadas pela primeira vez no texto.

Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

Evite os jargões e neologismos. Não faremos grandes correções de gramática e ortografia, o que é responsabilidade do autor. Se o inglês não for a língua nativa dos autores, o artigo deve ser revisado por um revisor nativo de língua inglesa. Para não nativos de língua inglesa e autores internacionais que necessitem de assistência na escrita do manuscrito antes da submissão, sugerimos os serviços da Voxmed Medical Communications, American Journal Experts ou PaperCheck.

