

TESTE DO PEZINHO

1. INTRODUÇÃO

O rastreamento de um grande número de doenças congênitas, relacionadas a distúrbios do metabolismo e infecções, pode ser realizado pela análise de gotas de sangue do neonato em papel filtro: O Teste do Pezinho (TP). É sugerido que o teste seja realizado entre **3 e 30 dias de vida** (1,2,3,4,5).

O Instituto de Patologia Clínica Hermes Pardini disponibiliza o TP em 4 perfis: **básico, ampliado, plus e completo**. Cada uma das determinações também podem ser solicitadas isoladamente ou compondo um perfil individualizado.

		Determinações	Condição detectada
C O M P L E T O	P L U S	Fenilalanina	Fenilcetonúria (PKU)
		Cromatografia de aminoácidos	Aminoacidopatias
		TSH neonatal	Hipotireoidismo congênito
		T4 neonatal	Hipotireoidismo congênito
	A M P L I A D O	17-OH-Progesterona neonatal	Hiperplasia Adrenal congênita
		Tripsina neonatal	Fibrose Cística
		Galactose	Galactosemia
		Hemoglobinopatias triagem	Hemoglobinopatias
	B Á S I C O	Atividade da Biotinidase	Deficiência de Biotinidase
		Toxoplasmose IgM neonatal	Toxoplasmose congênita
		G6PD	Deficiência de G6PD
		HIV neonatal	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
		Sífilis IgM neonatal	Sífilis congênita
		Rubéola IgM neonatal	Rubéola congênita
		Citomegalovírus neonatal	Infecção congênita pelo Citomegalovírus
		PCR para MCAD	Deficiência de MCAD

2. INSTRUÇÕES DE COLETA:

- 1- Fazer anti-sepsia do calcanhar com álcool 70° e esperar secar à temperatura ambiente.
- 2- Puncionar, com lanceta de ponta fina ou agulha descartável, uma das áreas laterais da região plantar do calcanhar.

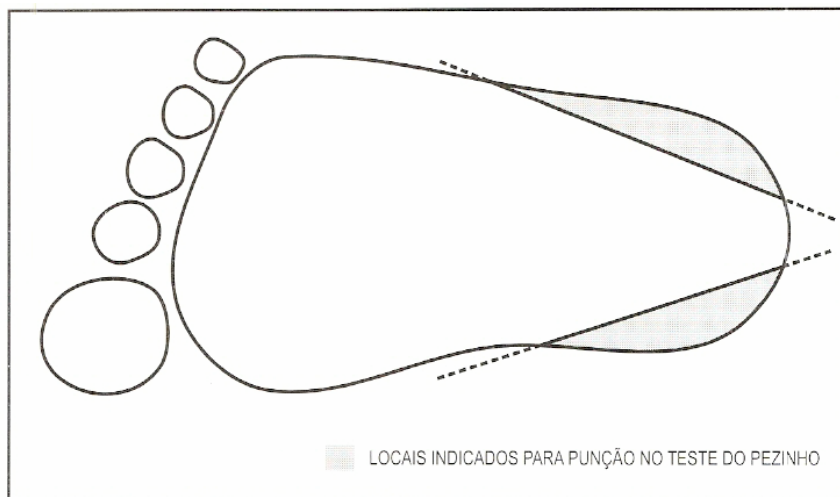
3- Após formação da gota de sangue, retire a primeira gota com gaze ou algodão. Encoste o centro do círculo, saturando sua área até o verso do papel filtro. Quanto ao número de círculos que devem ser preenchidos com sangue:

02 círculos para: T4 neo, TSH neo, Tripsina neo, 17-OH-progesterona neo.

02 círculos para: Biotinidase, Galactose, Toxoplasmose, Sífilis, HIV.

1 círculo para: outros

4-Aguardara secagem do cartão. Acondicionar o cartão em papel alumínio e enviar ao laboratório.



3. DETERMINAÇÕES REALIZADAS NO TESTE DO PEZINHO

DETERMINAÇÃO DO TSH NEONATAL HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO (HC)

HC é um distúrbio oligossintomático ao nascimento que, se não diagnosticado precocemente, pode levar ao retardo do crescimento e do desenvolvimento neuropsicomotor. A produção inadequada do hormônio da tireóide no HC tem várias causas: agenesia ou ectopia da tireóide, distúrbios da hormonogênese, cretinismo endêmico e hipopituitarismo (6,7).

Incidência de 1 em 3.600 a 5.000 nascidos-vivos nos EUA. Estudo brasileiro evidenciou TSH neonatal maior que 100 microUI/ml em 1/2980 a 8.278 nascidos-vivos. Nos estados litorâneos a incidência é maior (8).

O TSH neonatal (TSHN) deve sempre ser associado ao T4 neonatal (T4N). Os valores normais de TSHN estão abaixo de 10 microU 1/mi. Aceita-se como normais valores até 40 microUI/ml com queda rápida em 10 dias. Valores entre 40-100 microUI/ml também podem decorrer de outras condições: anóxia perinatal, icterícia, pré-termo, síndrome do desconforto respiratório, doença hipertensiva materna e descolamento prematuro de placenta. Nestes casos, os valores também se normalizam em 10 dias. Elevações persistentes são características de hipotireoidismo. O TSH não deve ser utilizado para controle terapêutico antes de 10 meses de idade devido à imaturidade do mecanismo de supressão (6,9,10).

DETERMINAÇÃO DO T4 NEONATAL HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO (HC)

Os valores normais de T4N são de 6 a 17 mcg/dl. Aceita-se valores até 22 mcg/dl em virtude da tireoglobulina (TBG) materna. Sua interpretação apresenta dificuldades (7,10):

1. Interferência da TBG:

Valores baixos de T4N podem ocorrer em neonatos com baixa TBG, o que é freqüente no sexo masculino (1 em 5.000 a 10.000 nascimentos). Neonatos com hipotireoidismo podem apresentar T4N normal devido ao aumento da TBG.

2. Valores baixos podem decorrer da prematuridade.

A confirmação do HC deve ser realizada com as determinações do T4 livre e do TSH ultra sensível séricos (7,10).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA BIOTINIDASE DEFICIÊNCIA BIOTINIDASE

A deficiência da biotinidase é um distúrbio autossômico recessivo que leva à pouca disponibilidade de biotina, co-fator para atividade de várias enzimas. Incidência de 1 em 72.000 a 126.000 nascimentos nos EUA (1). Apresenta incidência descrita no Estado do Paraná de 1 em 125.000 nascidos (11).

As formas severas cursam com alterações do SNC (ataxia, convulsões, retardo neuropsicomotor, hipoacusia), amaurose, alterações de pele e anexos. Diagnóstico precoce permite reposição oral da biotina, o que pode reverter o quadro clínico (12).

A determinação da atividade da biotinidase é feita por método colorimétrico. Valor de referência: normal > 30%; diminuição parcial: 10-30%; diminuição severa: < 10%.

FENILALANINA FENILCETONÚRIA

A fenilcetonúria (PKU) é a mais freqüente das aminoacidopatias. Incidência de 1 em 12.000 a 15.000 em São Paulo (8). É um erro inato do metabolismo, localizado no braço longo do cromossomo 12, sendo herança autossômica recessiva. Resulta de deficiência da fenilalanina-hidroxilase que catalisa a conversão da fenilalanina a tirosina. A hiperfenilalaninemia é deletéria ao sistema nervoso central, acarretando atraso do desenvolvimento neuropsicomotor (13).

A quantificação da fenilalanina é realizada por método fluorimétrico modificado. Valor de referência: até 4 mg/dl. Casos de aumento transitório da fenilalanina podem ocorrer por "imaturidade das enzimas", com subsequente normalização. Na ausência do Teste do Pezinho, a PKU raramente é diagnosticada antes de seis meses, quando se observa o atraso do desenvolvimento. Gestante portadora de PKU pode determinar síndrome clínica no feto: microcefalia, retardo mental, cardiopatias, baixo peso. Para evitar resultado falso-negativo, este exame deve ser realizado após 48h de vida, tendo o recém nascido recebido aleitamento (14,15).

CROMATOGRAFIA DE AMINOÁCIDOS QUALITATIVA OUTRAS AMINOÁCIDOPATIAS

A cromatografia em papel filtro é qualitativa, mostrando apenas se o aminoácido está aumentado. Identifica as seguintes aminoacidopatias:

citrulinemia, doença do Xarope de Bordo, fenilcetonúria, histidinemia, hidroxiprolinemia, hiperargininemia, PKU, hiperglicinemia, hiperlisinemia, hipermetionemia, hiperornitinemia, hiperprolinemia, hipervaiñemia, homocistinúria, hipertirosinemia.

Resultados positivos devem ser confirmados pela Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPCL) Quantitativa em soro ou urina. A tabela 1 cita desordens congênitas do metabolismo dos aminoácidos mais freqüentes (16).

Tabela 1 - Desordens congênitas do metabolismo dos aminoácidos

Distúrbios	Achados clínicos	Achados laboratoriais
Fenilcetonúria Clássica	Retardo mental, distúrbio psiquiátrico	Fenilalanina plasmática > 15 mg/dl
Fenilalaninemia benigna	Assintomático	Aumento fenilalanina plasmática
Fenilalaninemia maligna	Retardo mental, distúrbio psiquiátrico	Aumento de fenilalanina plasmática
Tirosinemia hereditária	Cirroze hepática Disfunção renal tubular	Aumento tirosina plasmática
Alcaptonúria	Ocronose, Artrite	Aumento ácido homogentísico urinário
Histidinemia	Defeito de fala e audição	Aumento da histidina urinária e plasmática
Aminoacidemia de cadeia ramificada	Convulsão, cetose, retardo mental	Aumento aminoácidos ramificados plasmáticos e urinários
Homocistinúria	Retardo mental, Tromboembolismo	Aumento da homocistina e metionina plasmáticas e urinárias
Cistationinúria	Assintomático	Aumento da cistationina urinária
Cistinúria	Cálculos urinários	Aumento da cistina e aminoácidos dibásicos urinários
Hiperglicinemia cetótica	Cetose, neutropenia, retardo mental	Aumento da glicina e ácido propiônico plasmáticos e urinários
Hiperglicinemia não-cetótica	Retardo mental	Aumento da glicina na urina e plasma.
Anormalidades do ciclo da uréia	Retardo mental, vômitos, letargia, convulsões	Aumento de glutamina e citrulina no plasma e urina. Aumento da amônia plasmática
Glicinúria	Assintomático	Aumento da glicina, prolina e hidroxiprolina
Doença de Hartnup	Ataxia, retardo mental	Aumento de aminoácidos neutros na urina
Síndrome de Fanconi	Acidose e raquitismo	Aminoacidúria, glicinemia, fosfatúria

DETERMINAÇÃO DA GALACTOSE GALACTOSEMIA

A Galactosemia é uma doença autossômica recessiva, causada pela deficiência das enzimas galactose-1 -fosfato-uridil-transferase (forma clássica), uridina-difosfatogalactose-4-epimerase e da galactoqueinase. Acarreta no acúmulo da galactose no sangue e nos tecidos. Incidência de 1 em 60.000 a 80.000 nascidos para a forma clássica (1,17).

Manifesta-se com sinais e sintomas gastro-intestinais, icterícia, catarata, retardo mental e susceptibilidade a sepsis por E. coli. Esta doença é usualmente fatal se não diagnosticada. Dieta sem galactose deve ser mantida por toda vida para que se evite a manifestação da deficiência (17).

A determinação da galactose total neonatal é realizada por imunoensaio enzimático. Valor de referência: até 10 mg/dl.

DETERMINAÇÃO A 17-OH-PROGESTERONA NEONATAL HIPERPLAIA ADRENAL CONGÊNITA (HAC)

A HAC é uma herança autossômica dominante caracterizada pela deficiência de enzimas na síntese de corticóides adrenais. Cerca de 90 a 95% dos casos são devidos à deficiência da enzima 21-hidroxilase causando um aumento da 17-alfa- hidroxiprogesterona (18). A incidência é de 1:7500 a 1:12.000 nascimentos. A HAC leva a virilização com ou sem distúrbios hidroeletrólíticos graves e soldadura precoce de epífises. Apresenta mortalidade neonatal de 9% (19).

A determinação da 17-OH-progesterona neonatal é realizada por fluoroimunoensaio. Os valores de referência devem considerar o peso e a idade gestacional. Para os valores de referência abaixo, a sensibilidade desse teste é próxima a 100% com a especificidade maior que 99% (20,21).

Valores esperados para 17-OHP Neonatal - Teste do Pezinho

Peso ao Nascimento (gramas)	Idade Gestacional (semanas)	Valor de Referência (ng/dl)
≤2500	≤32	≤8260
	>32-36	≤4950
	>36 OU DESCONHECIDA	≤3965
> 2500	DESCONHECIDO	≤ 990
	≤33	≤8260
	34-37	≤3300
	≥37	≤1320

A possibilidade de encontrarmos valores falso-positivos ocorre principalmente em prematuros, recém-nascidos com baixo peso ao nascer e em crianças com doenças intercorrentes. A possibilidade de falso-negativo deve sempre ser considerada devido ao espectro clínico-laboratorial da HAC, sendo mais freqüente em amostras colhidas nas primeiras 24 horas de vida. A Academia Americana de Pediatria sugere que o teste deva ser coletado até o sétimo dia de vida da criança (22,23).

O objetivo primordial da triagem é a detecção da forma clássica perdedora de sal. A confirmação dos casos positivos deve ser feita com a determinação do 17-OH- progesterona no plasma (24,25).

DETERMINAÇÃO DA TRIPSINA NEONATAL FIBROSE CÍSTICA

A Fibrose Cística ou mucoviscidose é uma herança autossômica recessiva decorrente de mutações genéticas localizadas no cromossomo 7 que determinam deficiência da proteína responsável pelo transporte de cloro pelas células epiteliais, acarretando distúrbio da secreção exócrina (muco espesso). Incidência de 1 em 2.000 a 9.000 nascidos-vivos. A mutação mais comum em crianças brancas é a F508, havendo mais de 150 mutações descritas (26,27,28).

O acúmulo de tripsina decorre da obstrução dos ductos pancreáticos. Da mesma forma, o espessamento da secreção pulmonar leva a doença pulmonar crônica com infecções de repetição (29).

A determinação da tripsina neonatal é realizada por fluoroimunoensaio. Valor de referência: até 204 ng/ml. A confirmação da doença requer níveis aumentados de cloreto de sódio no suor (iontoforese) e PCR para Fibrose Cística. O diagnóstico neonatal permite intervenções terapêuticas precoces e o aconselhamento genético dos pais (30,31).

DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINAS ANÔMALAS HEMOGLOBINOPATIAS

As Hemoglobinopatias são um grupo de desordens genéticas caracterizadas pela produção anormal de cadeias de hemoglobina (são conhecidas aproximadamente 400 hemoglobinas variantes). Apresentam alta prevalência na população brasileira em virtude da miscigenação racial. O recém-

nascido normal apresenta HbA e Hbfetal. A HbF predomina ao nascimento, com seus níveis decrescendo até os 36 meses de idade. Três grupos de desordens podem ser encontrados (32,33):

- 1- Variações estruturais: HbS e HbC (decorrentes de trocas de aminoácidos).
- 2- Talassemias: redução na produção de uma ou mais cadeias de hemoglobinas.
- 3- Persistência da hemoglobina fetal.

Medeiros et al. descrevem 1,53% de Hb anormais (Hb C e Hb S) em amostra brasileira (34). Programa de triagem em Minas Gerais encontrou traço falciforme em 3,2%, HbC em 3% e anemia falciforme em 1,26% da amostra (35).

O Instituto de Patologia Clínica Hermes Pardini realiza a triagem neonatal de Hemoglobinopatias por HPLC, método de elevada sensibilidade, que permite maior diferenciação de hemoglobinas anômalas, sendo o valor de referência a ausência de hemoglobinas anômalas. Resultados anormais devem ser confirmados após 4 meses de idade com eletroforese de hemoglobina em sangue (36,37).

DETERMINAÇÃO DA G6PD DEFICIÊNCIA DE G6PD

A deficiência de G6PD (glicose-6-fosfato-desidrogenase) é uma enzimopatia comum, genética, ligada ao cromossomo X. Nas Américas tem incidência aproximada de 10% da população. Acarreta em uma susceptibilidade a crises de hemólise, induzida por drogas (sulfas, anti-maláricos, nitrofurantoína, anti-histamínicos), infecções bacterianas e viróticas e pela ingestão de fava. Pode se manifestar com anemia hemolítica e icterícia neonatal (1,38).

A determinação da G6PD neonatal, em papel filtro, é realizada por método colorimétrico, sendo normais os valores superiores a 2,1 u/g hb. Todos os valores baixos devem ser confirmados pela determinação em sangue. Ressalta-se que níveis elevados de G6PD podem ser encontrados ao nascimento e em outras situações em que ocorram predomínio de hemácias jovens (ex: anemias hemolíticas), sem significado patológico (39,40).

DETERMINAÇÃO DE TOXOPLASMOSE IGM NEONATAL TOXOPLASMOSE

A infecção recente da gestante pelo *Toxoplasma gondii* pode resultar em Toxoplasmose congênita (TC). Incidência de 1 em 3.000 nascidos. Ressalta-se que 80% dos casos de TC são assintomáticos ao nascimento, podendo desenvolver seqüelas neurológicas e oculares se não tratados. O diagnóstico pré-natal da TC pode ser realizado por POR no líquido amniótico (41).

A detecção de anticorpos IgM por imunoensaio enzimático em papel filtro, caso positiva, deve ser complementada pelos métodos sorológicos tradicionais. A IgG materna pode ser detectada na criança. Assim, deve-se proceder a pesquisa de IgM e IgA. Caso positivos, devem ser repetidos em 7 a 10 dias, para se afastar a possibilidade de falso-positivo por transmissão passiva de IgM na rotura da placenta. Um resultado inicial negativo não afasta infecção, pois a produção de anticorpos pode ser tardia. A demonstração de IgA parece ser mais sensível que IgM para infecção de neonatos (42,43).

DETERMINAÇÃO DE HIV-1 NEONATAL SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

A infecção pelo HIV por via vertical apresenta evolução clínica mais grave que nas outras formas de transmissão. Neonatos de mães HIV positivo podem ser soropositivos até 18 meses, tendo em vista que a IgG atravessa a barreira placentária (44).

No Teste do Pezinho realiza-se a pesquisa de anticorpos para antígeno viral HIV-1 do envelope (ENV GP41) por imunoensaio enzimático.

É necessário a complementação da sorologia em caso de HIV neonatal positivo. A pesquisa do HIV com POR é o método utilizado para se confirmar a infecção em crianças (1, 45).

DETERMINAÇÃO DE SÍFILIS IGM NEONATAL

SÍFILIS

A presença de anticorpo IgM para treponema caracteriza uma infecção aguda, sendo útil na sífilis congênita. Resultado negativo não exclui esta infecção (sensibilidade de 80%). Guinsburg encontrou soropositividade para sífilis em 5,6% de 3664 nascidos-vivos em amostra brasileira (46).

Triagem neonatal de sífilis é realizada com a detecção de IgM por imunoensaio enzimático por captura em papel filtro. Deve ser complementada pela sorologia caso seja positiva ou haja suspeição clínica (46,47).

DETERMINAÇÃO DE RUBÉOLA IGM NEONATAL

RUBÉOLA

A infecção materna pelo vírus da rubéola pode gerar aborto ou feto com má formação (Síndrome da Rubéola Congênita). Ao nascer, pode não haver sintomas desta infecção (47,48).

A presença de anticorpos IgM para Rubéola no neonato é indicativo de rubéola congênita, pois esse não atravessa a barreira placentária. A determinação é realizada por imunoensaio enzimático de sanduíche duplo em papel filtro. Deve ser complementada pela sorologia caso positiva ou haja suspeição clínica. Ressalta-se que 20% dos neonatos infectados não produzem IgM antes de 30 dias de idade. A IgG materna pode estar presente por mais de 6 meses. Lembramos que IgG avidez não tem utilidade nos casos de rubéola congênita pois pode permanecer com baixa avidez por 3 anos (48,49).

DETERMINAÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS IGM NEONATAL

INFECÇÃO CONGÊNITA PELO CITOMEGALO VÍRUS (CMV)

O CMV é considerado a causa mais freqüente de infecção congênita (0,3 a 2% dos nascimentos). A maioria absoluta dos recém-nascidos com infecção sintomática ao nascimento nascem de mães que tiveram infecção primária durante a gestação. A reativação de infecção pregressa na gestante está associada a baixos índices de infecção do concepto (50,51).

Dos recém-nascidos infectados, apenas 15% têm sintomas ao nascimento, sendo que 10% dos infectados sem sintomas terão seqüelas neurológicas. A forma mais grave é denominada “Doença de inclusão citomegálica” e caracteriza-se por icterícia, hepatoesplenomegalia, petéquias, microcefalia, coriorretinite e calcificações cerebrais. IgM não ultrapassa a barreira placentária, sendo sua presença no recém-nascido útil para o diagnóstico de infecção congênita. Ressaltamos a possibilidade de infecção do recém-nascido durante o trabalho de parto ou pelo leite materno, pois 50% das mães infectadas excretam o CMV no leite. Em caso de resultados positivos no teste do pezinho, a confirmação requer complementação da sorologia (51,52).

DETERMINAÇÃO DE MCAD

DEFICIÊNCIA DA MCAD

A deficiência da MCAD (acil-CoA Desidrogenase de Cadeia Média) é uma condição autossômica recessiva que resulta em um defeito na beta-oxidação de ácidos graxos, usualmente precipitado por infecções ou jejum. A apresentação clínica é súbita e variável podendo manifestar-se agudamente com sintomas de encefalopatia aguda e hepatomegalia. Episódios caracterizados por hipoglicemia não-cetótica fulminante podem ocorrer. Esta deficiência é responsável por 3% dos quadros de morte súbita na infância. Apresenta prevalência entre 1:10.000 e 1:25.000 nascidos-vivos no Reino Unido. A mutação A985G é encontrada em 85% dos casos e pode ser detectada em neonatos pela reação em cadeia da polimerase em papel filtro. Tratamento da Deficiência de MCAD inclui a prevenção de períodos prolongados de jejum, redução de gordura na dieta e suplementação de carnitina (1,53,54).

4. BIBLIOGRAFIA

- 1- American Academy of Pediatrics. Newborn screening fact sheets. Pediatrics. 1996; 98:471-501 ..
- 2- Ministério da Saúde. Brasil. Portaria número 822, de 6 de junho de 2001.
- 3- Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests. 7th. Wolters Kluwer, 2001.773-776.

- 4- Pass KA, Lane PA, Fernhoff PM, Hinton CF, Panny SR, Parks JS, et al. US Newborn Screening System Guidelines II: Follow-up Children, Diagnosis, Management and Evaluation. Statement of Council of Regional Networks for Genetic Services. J. Pediatr. 2000; 137: S1-S46.
- 5- American Academy of Pediatrics. A compendium of Resources on Newborn Screening Policy and System Development. January 16.2002. 48p.
- 6- Knobel M, Nogueira CR, Medeiros-Neto G. Genética molecular do hipotireoidismo congênito. Arq Bras Endocrinol Metab. 2001; 45:124-131.
- 7- Radetti G, Gentili L, Beck-Peccoz P. Fetal and neonatal thyroid disorders. Clin. Lab. 2001; 47:411-417.
- 8- Franco DE, Maciel RBM, Matsumura LK, Kunil IS, Furuzawa GK, Faria AM, Viera JGH. Implantação do programa de rastreamento de hipotireoidismo na Fundação Hospitalar do Distrito Federal. Arq Bras Endocrinol Metab. 1997; 41:6-13.
- 9- Hsiao PH, Chiu YN, Tsai NY, et al. Intellectual outcome of patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening. Journal of the Formosan Medical Association. 2001; 100:40-4.
- 10- Wilson PD, Codwell JG. Newborn hypothyroid screening in four private. The private sector. Am J Dis Child. 1985; 139:662-3.
- ii- Pinto ALR, Raymond KM, Bruck 1, Antoniuk AS. Estudo da prevalência em recém-nascidos da deficiência de biotinidase. Rev Saúde Pública. 1998; 32: 148-52.
- 12- Pass KA, Amador PS. A Pilot screening for biotinidase deficiency in newborns. New York State Department of Health. 1989.
- 13- Hellenkson KL. National Institutes of Health. Consensus Development conference statement: Phenylketonuria: Screening and Management. 2001. <http://www.nih.gov/>
- 14- Sinal LM, Kim SC, Casey R, et al. Phenylketonuria screening: effect of early newborn discharge. Pediatrics. 1995; 96:605-608.
- 15- Mira NVM, Marquez UML. Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria. Rev Saúde Pública. 2000; 34:86-96.
- 16- Jacobs DS, Demott WR, Oxley DK. Laboratory test handbook. 5 ed. 2001.100.
- 17- Radomska B. effectiveness of the screening programme for galactossemia. New strategy in Poland. Medycyna Wieku Rozwojowego. 2001; 5:51-8.
- 18- Santos MC, Cláudio EK. Estudo de frequência da hiperplasia adrenal congênita em centros de referência médica do Brasil. Arq Bras Endocrinol Metab. 1998; 42:385-94.
- 19- Therrel BL. Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. Endocrinol Metabol Clin North Am 2001; 30:1 5-30.
- 20- Brosnan PG, Brosnan CA, Kemp SF, et al. Effect of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. Arch Pediatr Adolesc Med 1999; 153:1272-78.
- 21- Therrel BL, Berenbaum SA, Kapanke-Manter V, et al. Results of Screening 1.9 Million Texas for 21-Hydroxylase-Deficient Congenital Adrenal Hyperplasia. Pediatrics 1998; 101:583-90.
- 22- Alien DB, Hoffman GL, Fitzpatrick P, et al. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. J Pediatr 1997; 130:128-33.
- 23- Kwon C, Farrel PM. The Magnitude and Challenge of False-Positive Newborn Screening Test Results. Arch Pediatr Adolesc Med 2000; 154:714-18.
- 24- Gudmundsson K, Majzoub JA, Bradwin G, et al. Virilising 21-Hydroxylase Deficiency: Timing of Newborn Screening and Confirmatory Tests can be Crucial. J Pediatr Endocrinol Metabol 1999; 12:895-901.
- 25- Lee A, Ellis G. Serum 17-hydroxyprogesterone in Infants and Children as Measured by a Direct Radioimmunoassay Kit. Clin Biochem 1991; 24:505-11.
- 26- Maróstica PJC, Santos JA, Souza WAS, Raskin S, Silva FAA Estimativa da incidência da mutação deit F508 em recém nascidos normais. Rev AMRIGS. 1995; 39:205-7.
- 27- Dodge JA, Ryley HC. Screening for cystic fibrosis. Arch Dis Child. 1982; 57:774-780.
- 28- Hammond KB, Abman SH, Sokol RJ, et al. Efficacy of statewide neonatal screening for cystic fibrosis by assay of trypsinogen concentrations. N Eng J Med. 1991; 325: 769-74.
- 29- National Institutes of Health. Genetic Testing for Cystic fibrosis. NIH Consensus Statement. 1999; 15.
- 30- Farrell PM, Aronson RA, Hoffman G, Laessig RH. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: first application of population-based molecular genetic testing. Wis Med J. 1994; 93:415-21.
- 31- Wilken B, Chalmers G. Reduced morbidity in patients with cystic fibrosis detected by neonatal screening. Lancet. 1985; 2: 1319-1321.
- 32- Almeida AM, Henthorn JA, Davies SC. Neonatal screening for haemoglobinopathies: the results of a 10 year programme in English Health Region. Br J Haematol. 2001; 112:32-5.
- 33- Lees CM, Davies S, Dezateux C. Neonatal screening for sickle cell disease. Cochrane Database Syst Rev. 2000; (2): CD001 913.
- 34- Medeiros TMD, Abreu A, Albuquerque LMM, Lins MRS. Hemoglobinas anormais e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em Natal, RN. Rev Bras Patol Clin. 1992; 28:43-7.
- 35- Serjeant GR. Screening for sickle-cell disease in Brazil. The Lancet. 2000; 356: 168-9.

- 36- Ducroq R, Pascaud O, Bevier A, Fi9et C, BenKerrou M, Elion J. Strategy linking several analytical methods of neonatal screening for sickle cell disease. *J Med Screen*. 2001;8:8-14.
- 37- Laird L, Dezateux C, Anionwu EM. Neonatal screening for sickle cell disorders: what about the carriers infant? *BMJ*. 1996; 313:407-411.
- 38- Reclos GJ, Hatzidakis CJ, Schulpis KH. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency neonatal screening: preliminary evidence that high percentage of partially deficient female neonates are missed during routine screening. *J Med Screen*. 2000; 7:46-51.
- 39- Elghetany MT, Davey, FR. Erythrocytic disorders. In: Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20. 2001:573-4.
- 40- Kaplan M, Leiter C, Harnmerman C et al. Comparison of commercial screening tests for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the neonatal period. *Clin Chem*. 1997; 43:1236-7.
- 41- Bessieres MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, et al. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol*. 2001;94:37-45.
- 42- Montoya J, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell: Principles and Practice of Infectious Disease. 5th. Churchill Livingstone. 2000:2859-88
- 43- Lynfield R, Guerin NG. Toxoplasmosis. *Pediatrics in Reviews*. 1997; 18:1-22.
- 44- Ortigão-de-Sampaio MB, Castello-Branco LRR. Imaturidade imunológica fetal e neonatal: implicações na evolução clínica da infecção pelo HIV-1 em crianças. *Rev Ass Med Brasil*. 1997; 43:29-34.
- 45- Crawford C. Protecting the weakest link: a proposal for universal, unblinded pediatric HIV testing, counseling and treatment. *J Community Health*. 1995; 20:125-41.
- 46- Guinsburg R, Santos AMN, Leal DV, Pacheco A1\BM, Okida KS, Trigueiro TC, et al. Sorologia positiva para sífilis no período neonatal: prevalência em maternidade de nível secundário; associação com fatores de risco maternos e sorologia positiva para HIV-1. *Rev Assoc Med Bras*. 1992;39: 100-4.
- 47- Cline MK, Chasse BD, Cyell M. Update in maternity care Maternal Infections. Primary Care; Clinics in Office Practice. 2000;27: 13-33.
- 48- Gershon AA. Rubella vírus. in: Mandell: Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Churchill Livingstone. 2000; 1708-1714.
- 49- CME. Control and prevention of rubella: evaluation and management of suspect outbreaks, Rubella in pregnant women, and surveillance for congenital rubella syndrome. *MMWR*. 2001; 50: RR-12.
- 50- Crumpacker CS. Cytomegalovirus. in: Mandell: Principles and Practice of Infectious Disease. 5th. Churchill Livingstone 2000: 1586-98.
- 51- Fowier SL. A light in the darkness: predicting outcomes for congenital cytomegalovirus infections. *J. Pediatr*. 2000; 137:4-6.
- 52- Lazzarotto T, Varani S, Guerra B, et al. Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection. *J. Pediatr*. 2000 Jul;137:90-5.
- 53- Andersen BS. Medium-Chain acyl CoA deshydrogenase (MCAD) Mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet*. 2001; 68: 1408-8.
- 54- Treem WR. Beta oxidation defects. *Biochemistry and Clinical. Clin Liver Dis*. 1999; 3:49-67.