

# Deficiência da Biotinidase

- Luanna Silva Lages Castelo Branco: Endocrinologista Pediátrica do Hospital Infantil Lucídio Portella e Endocrinologista Pediátrica do Ambulatório de Triagem Neonatal de Hiperplasia Adrenal Congênita, Teresina - PI. Endocrinologista Pediátrica da Prefeitura Municipal de Teresina -PI. Membro Participante do Departamento de Endocrinologia da Sociedade Brasileira de Pediatria.

- Cresio Alves: Professor Associado de Pediatria, Coordenador do Serviço de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA. Presidente do Departamento de Endocrinologia da Sociedade Brasileira de Pediatria. Coordenador do Comitê de Comunicação Social da SBTEIM.

## Introdução

A deficiência de biotinidase (DB) é um erro inato do metabolismo, de herança autossômica recessiva, descrita pela primeira vez em 1983, na qual o organismo é incapaz de reciclar a vitamina biotina. Se não diagnosticada e tratada precocemente, as manifestações clínicas têm início nos primeiros meses ou anos de vida.

# Epidemiologia

A incidência mundial de DB é estimada em torno de 1:60.000 nascidos vivos, com variabilidade na incidência em diferentes países, ressaltando-se a importância de estudos regionais. Nos Estados Unidos, a incidência de DB profunda é de 1:80.000, e DB parcial entre 1:31.000 e 1:40.000. Na Europa, um estudo incluindo nove países mostrou uma incidência de DB de 1:47.486. Os estudos brasileiros sobre a epidemiologia da DB são escassos. Com base na incidência mundial 1:60.000 nascidos vivos, no Brasil com uma população 213 milhões de habitantes (2021), e extrapolando os resultados encontrados pelos pesquisadores brasileiros, estima-se que possam existir aproximadamente 3.450 pacientes com a doença.

No Paraná, em 125.000 amostras, foi encontrada uma incidência combinada de DB 1:62.500 nascidos vivos (NVs), a prevalência combinada de DB 1:62.500. Em 2004, observou-se em 225.136 amostras de várias regiões brasileiras a incidência de DB profunda e DP parcial de 1:9.000, 1:14.192 e 1:9000, respectivamente. Em 2010, em Minas Gerais, encontrou-se em 182.942 amostras uma incidência de DP parcial de 1:18.289, sem caso de DP profunda. De junho de 2013 a maio de 2018, o Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais triou 1.168.385 recém-nascidos para DB. A incidência combinada de DB profunda e parcial foi estimada em 1:13.909 (1:11.235 a 1:17.217). A incidência de DB profunda foi de 1:194.731 (1:89.286 a 1:424.809), e de DB parcial, 1:14.979 (1:12.003 a 1:18.692).

# Etiologia

A DB é causada por mutação do gene *BTD* (biotinidase), localizado no cromossomo 3p25, que codifica a enzima biotinidase. Até o momento, 241 alterações genéticas foram descritas como variantes patogênicas ou provavelmente patogênica. A biotinidase recicla a biotina, vitamina B7, presente em alimentos como leite, gema de ovo e fígado, removendo sua ligação com as proteínas dos alimentos e transformando-a na sua forma livre. Desse modo, a mutação do *BTD* diminui ou anula a atividade da biotinidase, impedindo que a biotina livre seja utilizada como cofator pelas enzimas carboxilases dependentes da biotina (acetil-CoA, piruvato-carboxilase, propionil-CoA carboxilase,  $\beta$ -metilcrotonil-Co-A carboxilase. Essas enzimas participam da gliconeogênese, catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada e síntese de ácidos graxos. Como na DB, a atividade das carboxilases é prejudicada, ocorre um aumento de substratos potencialmente tóxicos (ácidos orgânicos, ácido lático, biocitina, amônia) afetando a função de várias células e tecidos.



# Manifestações clínicas

O início dos sintomas varia de 2 semanas a 2 anos de idade, mas alguns pacientes desenvolvem sintomas da doença muito mais tarde na vida, inclusive na adolescência ou início da vida adulta. O fenótipo varia, inclusive entre indivíduos de uma mesma família. Os principais órgãos e sistemas afetados e suas manifestações clínicas são:

- **Neurológico:** convulsão tônico-clônica generalizada e menos frequentemente espasmos infantis e crises mioclônicas, hipotonia e atraso do desenvolvimento. Em adultos: sonolência e parestesia.
- **Dermatológico:** rash cutâneo (erupção maculopapular, pele seca rugosa e eritematosa, principalmente ao redor da boca, nariz e olhos), cabelo fino e esparsos, alopecia, infecções fúngicas.
- **Audiológico:** perda auditiva neurosensorial, problemas de linguagem.
- **Oftalmológico:** ceratite, conjuntivite, atrofia óptica, pigmentação da retina, distúrbios da motricidade ocular.
- **Gastrointestinal:** dificuldade de alimentação, diarreia, hepatomegalia.
- **Respiratório:** hiperventilação, estridor e apneia.
- **Imunológico:** infecções fúngicas cutâneas e infecções virais.

## Classificação

A DB pode ser classificada, de acordo com sua gravidade, em dois grupos com base na atividade da biotinidase:

- **Deficiência profunda:** ocorre quando a atividade enzimática é menos de 10% do valor normal. As manifestações clínicas mais frequentes são convulsão, hipotonia, atraso do desenvolvimento, perda auditiva neurossensorial, deficiência visual rash cutâneo e alopecia.
- **Deficiência parcial:** ocorre quando a atividade enzimática é reduzida entre 10 e 30% do valor esperado. As manifestações clínicas são menos graves, com hipotonia, rash cutâneo e alopecia, que surgem durante processos infecciosos ou outros tipos de estresse.

## Triagem Neonatal

A DB foi incorporada a triagem neonatal, em 1984, no estado da Virgínia, nos EUA, quando foi desenvolvido um método colorimétrico, simples, utilizado para detectar a ausência ou presença de atividade de biotinidase em amostras de sangue seco de papel filtro. No ano de 2001, o Ministério da Saúde publicou a Portaria Ministerial nº 822, de 6 de junho de 2001, que criou o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) e os Serviços de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) em cada estado. Atualmente, a quarta fase foi implantada incluindo na triagem neonatal a hiperplasia adrenal congênita e a deficiência de biotinidase. Devido à variabilidade e inespecificidade das manifestações clínicas, há um grande risco de atraso no diagnóstico, quando ele não é feito por meio de triagem neonatal. Pacientes com diagnóstico tardio têm, na maioria das vezes, retardo psicomotor e outros sintomas neurológicos, tais como leucoencefalopatia, perda auditiva e atrofia óptica, que podem ser irreversíveis e até mesmo fatais. Aproximadamente 76% dos pacientes não tratados com deficiência profunda apresentam perda auditiva neurossensorial.



Dessa forma, a deficiência de biotinidase preenche os critérios revisados de Wilson & Jungner para ser incluída na triagem neonatal (teste do pezinho):

- Os pacientes afetados não mostram sinais clínicos nesse período da vida.
- É uma doença com alta morbidade e mortalidade.
- Possui um tratamento simples e efetivo, que modifica a história natural da doença impedindo que as manifestações clínicas ocorram e atenuando sua gravidade, uma vez instaladas.
- Não é uma doença extremamente rara.

## Diagnóstico

### Teste de triagem neonata

O diagnóstico neonatal pode ser realizado na triagem neonatal (condição ideal) em pacientes ainda assintomáticos. Para a triagem neonatal, utilizam-se cartões de papel-filtro impregnados de sangue, nos quais é possível aferir a atividade da enzima biotinidase mediante um ensaio colorimétrico qualitativo que utiliza o biotinil-p-aminobenzoato como substrato.

Os resultados, quando indicativos de DB (Quadro 1), serão considerados como suspeitos, até serem confirmados pelos testes quantitativos em plasma, podendo ser complementado com testes moleculares. O diagnóstico definitivo exige confirmação laboratorial, a ser realizada pela medida da atividade enzimática feita em plasma por método colorimétrico ou fluorimétrico. O Quadro 2 sumariza a interpretação do teste de triagem neonatal para DB, segundo recomendações do Ministério da Saúde do Brasil

**Quadro 1.** Triagem neonatal para a deficiência de biotinidase (dosagem semi-quantitativa no sangue).

| Classificação | Resultado (nmol/min/dL) |
|---------------|-------------------------|
| Normal        | >60                     |
| Alterado      | <60                     |

**Quadro 2.** Interpretação do teste de triagem neonatal para deficiência da biotinidase.

| 1° teste de triagem<br>(Todos recém-nascidos:<br>3°-5° dia) |                               | 2° teste de triagem (Apenas pacientes<br>com 1° teste alterado) |   |
|---|-------------------------------|---|---|
| Resultado   | Conduta                       | Resultado   | Conduta   |
| Normal  | Liberar resultado             | Normal  | Liberar resultado   |
| Alterado  | Solicitar 2° teste de triagem | Alterado  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Consulta médica imediata</li> <li>- Iniciar tratamento</li> <li>- Coletar testes confirmatórios aos 3 meses de idade para crianças nascidas a termo, ou aos 3 meses de idade gestacional corrigida, para crianças nascidas prematuras</li> </ul> |

## Testes confirmatórios

O diagnóstico definitivo consiste na detecção da atividade da enzima no soro. Para isso, é necessário seguir as orientações quanto a coleta, processamento e armazenamento do sangue. Baseado nessa análise pode-se classificar os pacientes em dois subgrupos: deficiência profunda (< 10% de atividade enzimática) ou parcial (10 a 30% de atividade enzimática (Quadro 3). O Quadro 4 sumariza a interpretação do teste confirmatório para DB, segundo recomendações do Ministério da Saúde do Brasil. O método bioquímico pode ser complementado por estudo molecular, padrão ouro, para detecção de mutações no BTD. O sequenciamento do gene da BTD pode ser útil para definir o status dos indivíduos, tomar decisões sobre o tratamento ao longo da vida e obter uma melhor compreensão genótipo- bioquímico e a correlação com o fenótipo. Portanto, sequenciar o gene da BTD é uma ferramenta útil, não apenas para confirmar os casos de DB triados nos programas, mas também para obter informações valiosas sobre a variabilidade genética entre diferentes populações.

**Quadro 3.** Teste confirmatório para a deficiência de biotinidase (dosagem sérica quantitativa).

| Classificação        | Valor de referência (nmol/min/mL) |
|----------------------|-----------------------------------|
| Normal               | 5,2-9,5                           |
| Heterozigose         | 2,2-5,1                           |
| Deficiência parcial  | 0,8-2,1                           |
| Deficiência profunda | <0,8                              |

**Quadro 4.** Interpretação do teste confirmatório para deficiência da biotinidase.

### Teste confirmatório

| Resultado | Conduta                                    |
|-----------|--|
| Normal    | Suspender tratamento com biotina e liberar |
| Alterado  | Manter tratamento e acompanhamento         |

# Resultados falso-positivos e negativos

Na análise dos resultados, é importante atentar para fatores responsáveis por resultados falso-positivos ou falso-negativos:

- **Deficiência profunda:** prematuridade, doença hepática, hiperalbuminemia, hipertrigliceridemia, icterícia, uso de ácido valproico, fatores técnicos (cuidados com a coleta, conservação da amostra, tempo de processamento e transporte),
- **Falso-negativos:** uso de sulfonamidas e transfusão de hemoderivados.

## Tratamento

O Programa Nacional de Triagem Neonatal, orienta iniciar o tratamento com biotina após dois testes de triagem alterados. O teste confirmatório deve ser realizado aos 3 meses de idade para os nascidos a termo. Nos recém-nascidos pré-termos, com dois testes de triagem alterados, um terceiro teste em papel-filtro deverá ser realizado quando a criança completar a idade gestacional corrigida para o termo (entre 37 e 41 semanas de idade gestacional corrigida) e, se o resultado for alterado, realizar o teste quantitativo 3 meses após a coleta da terceira amostra em papel-filtro ou quando a criança completar três meses de idade corrigida. Nos recém-nascidos que necessitem receber transfusão de hemoderivados, realizar a coleta de sangue em papel-filtro previamente à transfusão, se a transfusão já tenha sido realizada, aguardar 3 meses para realizar a coleta; em crianças que tiveram o primeiro teste de triagem com resultado alterado e que receberam ou necessitem de transfusão de hemoderivados antes do segundo teste de triagem, deve-se iniciar o tratamento, realizando o segundo teste de triagem 3 meses após a transfusão.

Todos os indivíduos com DB devem ser tratados por meio da suplementação com biotina oral em sua forma livre (não conjugada), incluindo os pacientes com DB parcial. As necessidades diárias de biotina são variáveis: adultos e mulheres grávidas (30 µg); lactantes (35 µg); crianças e adolescentes até os 18 anos (5 a 25 µg). É importante frisar que o uso contínuo e diário é fundamental para o tratamento, uma vez que a depleção da biotina ocorre rapidamente. Após a suspeita diagnóstica, o tratamento deve ser instituído sem demora, pois os pacientes tornam-se deficientes em biotina dentro de poucos dias após o nascimento. De modo geral, todos toleram biotina oral, sem efeitos colaterais. Medidas dietéticas ou restrições alimentares não são necessárias.





As cápsulas de biotina (2,5 mg) devem ser integralmente deglutidas por crianças maiores (escolares e adolescentes) ou ter seu conteúdo retirado e administrado a lactentes, pré-escolares ou pacientes com distúrbios de deglutição juntamente com leite materno, fórmula infantil ou leite. A seguir, sem lavar a colher ou o dispensador, deve-se adicionar nova quantidade do líquido utilizado para que seja administrado todo o conteúdo da cápsula. Em caso de esquecimento de uma dose, não se deve dobrar a dose no dia seguinte, mantendo-se a dose habitual. Apresentações líquidas não são recomendadas devido à baixa solubilidade da biotina em solução aquosa.

A biotina deve ser utilizada na dose inicial de 5 a 10 mg/dia nas crianças com deficiência parcial (independentemente do peso corporal) e 10 a 20 mg/dia, nas crianças com deficiência profunda de biotinidase. A dose média situa-se em 10 mg/dia. Destaca-se, que os pacientes com teste de triagem alterados (casos suspeitos) e que aguardam a realização do teste quantitativo deverão receber a biotina oral na dose de 5 a 10 mg/dia, com ajustes de dose após o resultado do teste confirmatório ou de acordo com a evolução clínica. A suspeita de dose insuficiente ou não adesão ao tratamento, por surgimento ou agudização de sinais e sintomas da DB, poderá indicar a dosagem do perfil de ácidos orgânicos urinários por GC-MS. Se for detectada a presença de ácidos orgânicos compatíveis com a deficiência de múltiplas carboxilases será necessário o aumento da dose ou ajuste da adesão ao tratamento. Meninas na puberdade que apresentarem queda de cabelos e anormalidades cutâneas deverão receber dose máxima (20 mg/dia).

O tratamento preconizado deverá ser mantido por toda a vida, já que a interrupção da medida terapêutica produz o retorno ao quadro bioquímico inicial e suas consequentes manifestações clínicas. Cabe ressaltar que, em pacientes assintomáticos ou naqueles com boa resposta clínica, o tratamento deve ter suas doses mantidas, não havendo indicação de redução. Os pacientes com DB devem ser monitorizados por uma equipe multidisciplinar, de acordo com as manifestações multisistêmicas da doença. O aconselhamento genético deve ser sempre realizado, uma vez que a doença é autossômica recessiva. O risco de recorrência para novos filhos de casal não afetado (ambos cônjuges heterozigotos) é de 25%.

## Monitoramento

O acompanhamento clínico ambulatorial que se segue ao diagnóstico deve ser mensal até que haja remissão completa do quadro clínico, trimestral durante o primeiro ano de vida, semestral entre 1 e 5 anos e anualmente após os 5 anos. Os pacientes diagnosticados ainda assintomáticos devem fazer avaliação audiológica e oftalmológica, a cada 2 anos, até os 16 anos. Naqueles cujo diagnóstico foi estabelecido já com essas manifestações, as avaliações de monitorização devem ocorrer pelo menos anualmente até os 16 anos. Após essa idade, as avaliações podem manter-se bianuais ou conforme a sintomatologia.



Na DB com resposta clínica à reposição de biotina, as anormalidades bioquímicas e convulsões tendem a se resolver rapidamente após a instalação do tratamento, sendo posteriormente acompanhadas de melhora das manifestações cutâneas. Nas crianças com alopecia, o crescimento do cabelo tende a retornar durante um período de semanas a meses. Atrofia óptica e perda auditiva neurossensorial podem ser resistentes à terapia, especialmente se decorrido longo período entre seu início e o início do tratamento. Assim sendo, considera-se resposta terapêutica ao tratamento a melhora clínica da doença (dos sintomas tanto neurológicos quanto dermatológicos), não sendo necessária a realização de exames laboratoriais.

Após a melhora clínica ou a remissão completa dos sintomas, a dose deve ser continuada ao longo da vida. Nos casos em que não houver resposta adequada, aumentos da dose (até 20 mg/dia) deverão ser decididos por Comitê Estadual de Especialistas designado pelo Gestor Estadual.



## Bibliografia:

1. Borsatto T, Sperb-Ludwig F, Lima SE, S Carvalho MR, S Fonseca PA, S Camelo J Jr, M Ribeiro E, F V de Medeiros P, M Lourenço C, F M de Souza C, Boy R, Félix TM, M Bittar C, L C Pinto L, C Neto E, J Blom H, D Schwartz IV. Biotinidase deficiency: Genotype-biochemical phenotype association in Brazilian patients. *PLoS One*. 2017.12;12(5):e0177503.
2. Canda E, Kalkan Uçar S, Çoker M. Biotinidase deficiency: Prevalence, impact and management strategies. *Pediatric Health Med Ther*. 2020 May 4;11:127-133. doi: 10.2147/PHMT.S198656.
3. Carvalho NO, Del Castillo DM, Januário JN, Starling ALP, Arantes RR, Norton RC, Viana MB. Novel mutations causing biotinidase deficiency in individuals identified by the newborn screening program in Minas Gerais, Brazil. *Am J Med Genet A*. 2019 Jun;179(6):978-982. doi: 10.1002/ajmg.a.61137.
4. Carvalho NO, Januário JN, Felix GLP, Nolasco DM, Ladeira RVP, Del Castillo DM, Starling ALP, Norton RC, Viana MB. Frequency of biotinidase gene variants and incidence of biotinidase deficiency in the Newborn Screening Program in Minas Gerais, Brazil. *J Med Screen*. 2020 Sep;27(3):115-120. doi: 10.1177/0969141319892298.
5. Lara M, Aguiar M, Giannetti J, Januário J. Biotinidase deficiency: clinical and diagnosis aspects and neonatal screening. *Rev Med Minas Gerais* 2014; 24(3): 388-39.
6. Magoo A, Rodella G, Dianin A, Monge I, Messina M, Rigotti E, Pellegrini F, Molinaro G, Lupi F, Pasini A, Campostrini N, Ion Popa F, Teofoli F, Vincenzi M, Camilot M, Piacentini G, Bordugo A, Saleem H, Simpson B. Biotinidase deficiency. 2021 Aug 14. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.
7. Henderson MPA, McIntosh N, Chambers A, Desormeaux E, Kowalski M, Milburn J, Chakraborty P. Biotinidase activity is affected by both seasonal temperature and filter collection cards. *Clin Biochem*. 2022. 7:S0009-9120(22)00098-4. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2022.03.010.
8. Neto EC, Schulte J, Rubim R, Lewis E, DeMari J, Castilhos C, Brites A, Giugliani R, Jensen KP, Wolf B. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: biochemical and molecular characterizations. *Braz J Med Biol Res*.2004; 37 (3):295-9.
9. Newborn Screening for Biotinidase Deficiency. The experience of a Regional Center in Italy. *Front Pediatr*. 2021 May 31;9:661416. doi: 10.3389/fped.2021.661416.
10. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Deficiência de Biotinidase/Relatório de Recomendação, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Brasília – DF: Ministério da Saúde, 2015.
11. Silva GCV, Borsatto T, Schwartz IVD, Sperb-Ludwig F. Characterization of the 3'UTR of the BTD gene and identification of regulatory elements and microRNAs. *Genet Mol Biol*. 2022;14;45(1):e20200432. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0432.
12. Forny P, Wicht A, Rüfenacht V, Cremonesi A, Häberle J. Recovery of enzyme activity in biotinidase deficient individuals during early childhood. *J Inher Metab Dis*. 2022 Feb 23. doi: 10.1002/jimd.12490.
13. Triagem neonatal: deficiência de biotinidase / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamentode Atenção Especializada e Temática. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

