

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**FACULDADE DE MEDICINA**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fonoaudiológicas

**Saúde Funcional em linguagem, audição e equilíbrio**

**AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA EM PACIENTES COM  
DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE**

VINÍCIUS SOARES GARCIA

Belo Horizonte

2022

VINÍCIUS SOARES GARCIA

**AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA EM PACIENTES COM  
DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fonoaudiológicas da Universidade Federal de Minas Gerais – Faculdade de Medicina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Patrícia Cotta Mancini

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Elaine Alvarenga de Almeida Carvalho

Belo Horizonte

2022

Garcia, Vinicius Soares .  
G216a Avaliação audiológica em pacientes com  
Deficiência de Biotinidase[recursos eletrônicos]. / Vinicius  
Soares Garcia. - - Belo Horizonte: 2022.  
89f.: il.  
Formato: PDF.  
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Patrícia Cotta Mancini.  
Área de concentração: Ciências Fonoaudiológicas.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal  
de Minas Gerais , Faculdade de Medicina.

1. Perda Auditiva. 2. Triagem Neonatal. 3. Deficiência  
de Biotinidase. 4. Transtornos da Audição. 5. Dissertação

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA  
COLEGIADO DO CURSO PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FONOAUDIOLÓGICAS  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA EM PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE**

**VINÍCIUS SOARES GARCIA**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **OITO DE MARÇO DE DOIS MIL E VINTE E DOIS**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Ciências Fonoaudiológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

**TATIANA ROCHA SILVA**  
UFMG

**CELSO GONÇALVES BECKER**  
UFMG

**ELAINE ALVARENGA DE ALMEIDA CARVALHO**  
UFMG

**PATRÍCIA COTTA MANCINI-Orientador**UFMG

Belo Horizonte, 08 de março de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Tatiana Rocha Silva, Usuária Externa**, em 09/03/2022, às 20:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elaine Alvarenga de Almeida Carvalho, Professora do Magistério Superior**, em 12/03/2022, às 09:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Cotta Mancini, Professora do Magistério Superior**, em 14/03/2022, às 09:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celso Goncalves Becker, Professor Magistério Superior - Voluntário**, em 16/05/2022, às 20:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1298499** e o código CRC **3F779180**.

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitora: Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Mário Fernando Montenegro Campos

### **FACULDADE DE MEDICINA**

Diretora da Faculdade de Medicina: Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Vice-Diretora da Faculdade de Medicina: Profa Cristina Gonçalves Alvim

Coordenadora do Centro de Pós-Graduação: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Subcoordenadora: Profa. Eli lola Gurgel Andrade

### **DEPARTAMENTO DE FONOAUDIOLOGIA**

Chefe do Departamento de Fonoaudiologia: Profa. Letícia Caldas Teixeira

### **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FONOAUDIOLÓGICAS**

Coordenadora: Profa. Sirley Alves da Silva Carvalho

Subcoordenadora: Profa. Luciana Macedo de Resende

### **COLEGIADO**

Profa. Sirley Alves da Silva Carvalho – Titular

Profa. Aline Mansueto Mourão - Suplente

Profa. Ana Cristina Cortes Gama – Titular

Profa. Letícia Caldas Teixeira – Suplente

Profa. Luciana Macedo de Resende – Titular

Profa. Renata Maria Moreira Moraes Furlan – Suplente

Profa. Amélia Augusta de Lima Friche – Titular

Profa. Stela Maris Aguiar Lemos – Suplente

Profa. Patrícia Cotta Mancini – Titular

Profa Luciana Mendonça Alves - Suplente

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por ter me propiciado tantas oportunidades, por ter me dado forças quando eu mesmo duvidava que as tinha. Por ter me dado capacidade para enfrentar mais esse desafio.

Termino um ciclo, em um período bem singular, num ano bem diferente. O meu desejo é que tenhamos a serenidade de que o melhor vem logo mais. Buscar a luz da transformação, o brilho no olhar. E o desejo de vermos todos como iguais. Afinal, a vida deseja coragem de nós.

Não há palavras para descrever meus mais sinceros agradecimentos ao meu grande exemplo profissional, a quem me ofereceu inúmeras oportunidades nesse novo ciclo que fora iniciado, que acreditou em mim cegamente quando ninguém acreditava. Que foi a responsável por todos os frutos que venho a colher, à queridíssima **Profª. Patrícia Mancini**, me faltam predicados para descrever tanto carinho recebido e o quão sou grato por tudo e pelo todo, por me proporcionar tantas oportunidades e a chances de ser um profissional e pessoa melhores. Espero e creio que retribuirei à altura toda essa bonança e jamais irei decepcioná-la.

**Najlla**, pelos tantos anos de amizade, tantas histórias vividas juntos, tantas lutas travadas, tantos sonhos em ressonância e tanto impulso que me foi dado para ingressar neste ramo, onde de fato me encontrei, meu muito obrigado. Obrigado por encorajar-me a viver este desafio que se torna um sonho realizado.

À Professora **Elaine Carvalho**, por ter encarado este desafio e não ter medido esforços para a concretização desse trabalho.

Precisamos de empatia, de ver o outro, de nos reconhecer. De viver em sintonia com a nossa essência, buscando sempre crescer. A vida é generosa: cuide, ame, viva, deseje.

E por agora vivermos tempos tão diferentes, tão difíceis, meu desejo é que a luz do conhecimento irradie por todos com muita força. Sigamos brilhando, vivendo, inspirando, e que essa luz sempre nos traga esperança, alegria e humor. A liberdade me inspira. A vida e a pesquisa são uma aventura.

Às **professoras do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fonoaudiológicas da Universidade Federal de Minas Gerais**, em especial à **Profª. Luciana Macedo** e a **Profª. Luciana Mendonça** pela maneira afetuosa com que me

recepcionaram, e à **Profª. Stela Maris** pelos conhecimentos compartilhados e pela acolhida desde os tempos de graduando em Medicina.

Aos **queridos amigos** que trago no peito, pela compreensão dos momentos de ausência. Vocês foram essenciais.

É tempo de a gente olhar para trás e sonhar com o amanhã. O meu desejo é que alcancemos a serenidade sempre, dia após dia. Sigamos fortes, intensos e serenos.

É impossível não lembrar desta faculdade e de tantos mestres neste momento, já que vocês são pura alegria. Meu desejo é que continuemos acreditando em um mundo mais plural, sintonizado, em harmonia, como boas notas musicais.

**Profª. Alamanda Kfoury Pereira, Profª Paula Vidigal, Profª Marina De Brot, Prof. Enio Pietra, Prof. Gabriel Osanan, Profª Myriam Celani, Profª Rogéria Werneck**, minha eterna gratidão por nunca desistirem de mim, desde quando graduando, e por encorajar-me a saltos que eu jamais imaginaria conseguir.

**Profª. Mônica Demas**, minha paraninfa, àquela que endossou todas as minhas decisões. Jamais me esquecerei de sua descrição a meu respeito: “Ousadia sem garantias.” meu desejo é que a chama de acreditar na igualdade que você acendeu em mim não se apague nunca. Acreditar é um dom, e nisso, você é imbatível.

À toda **Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais**, meu recanto, meu refúgio, onde fiz morada, meu muito obrigado.

Em memória àqueles que continuam sendo tão queridos por mim, meu **avô Washington**, minha **avó Alaide** e **minhas tias Angélica e Mary**, que me olham e me guardam seja de onde estiverem, e sei, que neste momento, estariam orgulhosos de mim e daquilo que me tornei e venho construindo!

A cada **paciente**, cujo bem maior desta nossa profissão é acolhê-los de forma igualitária e humanística como me ensinaram. A eles um muito obrigado muito respeitoso. Muitas vezes, aprendi e fui imbuído da sabedoria que estes carregavam.

E por último e não menos importante, meu **pai** e minha **mãe**! Isso tudo é para lhes honrar! Para lhes mostrar que sim, pouco a pouco eu venho conseguindo. Contudo, eu quero mais, eu quero conseguir e poder mais. E lhes digo, que dentro desta Faculdade de Medicina da UFMG e desta Universidade, o que não me falta é inspiração e coragem para tal.

Meu desejo é que amanhã comemoremos o amor e a esperança que vejo em cada um que se empenha na pesquisa neste país, e que a empatia seja uma verdade

ao olharmos o outro. Nunca deixemos de acreditar. Este trabalho simboliza a criatividade expressiva e a presença de cada um de vocês.

Conseguir encerrar este ciclo e iniciar outro em tempos tão peculiares e tão sombrios para a pesquisa, só me dão a grande certeza de que minha escolha foi certa, e de que carrego comigo as melhores pessoas.

Por fim, respiramos e olhamos para nós. E nesse movimento, o que percebo é que a gente precisa de coragem. É isso que a vida quer de nós. E é isso que eu desejo estando do lado de todos vocês: sua coragem, seu olhar, sua vontade de fazer acontecer. Continuemos vibrando, e acreditando, que nada é impossível.

*"When they say send her back home, you tell them, I am home. I am the foundation of what you call home. When they tell you that you're angry or nasty, you tell them that they're mistaken. This is me. This is me being resolute and standing firmly in my truth. And when they say you're not beautiful, you tell them that you are the descendant of royalty."*

*Angela Bassett; 2019*

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A deficiência da Biotinidase (DB) é uma doença de herança autossômica recessiva que ocorre pela falha na reciclagem da vitamina do complexo B (Biotina, vitamina B7 ou Vitamina H). A Biotinidase (biotin-amido-hidrolase) (EC3.5.1.12) é a enzima que recicla a vitamina Biotina, que pode ser obtida por meio dos alimentos, pela reciclagem após seu uso pelo organismo ou através da produção da microbiota intestinal. A DB, quando não tratada no período compreendido entre o segundo e o quinto mês de vida, pode acarretar alterações como atraso no desenvolvimento, alopecia, lesões de pele, atrofia de nervo ótico, ataxia, hipotonia, convulsões, problemas respiratórios, como hiperventilação, estridor laríngeo, apnéia e perda auditiva. O diagnóstico é feito na Triagem Neonatal por meio da dosagem sérica da Biotina, que caracterizará o paciente como tendo a forma Parcial (DPaB) ou Profunda (DPB). O mapeamento gênico também é realizado para compreender melhor as interações entre fenótipo e genótipo da doença. O tratamento se dá através da suplementação de Biotina por via oral, iniciada logo após o diagnóstico.

**OBJETIVOS:** Avaliar a audição de pacientes desde recém-nascidos a adolescentes, com deficiência de Biotinidase parcial e profunda, em tratamento com suplementação de Biotina.

**MÉTODOS:** Foram estudados 42 pacientes, sendo realizadas avaliações e exames audiológicos pertinentes, de acordo com a idade do participante entre eles: avaliação do comportamento auditivo, Imitanciometria, Audiometria tonal e vocal e Emissões Otoacústicas Transientes. Estes dados foram inseridos em planilha do programa Excel versão 16.50 e analisados estatisticamente através do software SPSS 25.0, considerando nível de significância de 5% nas análises.

**RESULTADOS:** A amostra final contou com 39 pacientes com idades entre 2 meses e 14 anos, com média de idade de 82,34 meses. Dos participantes, 19 eram do sexo masculino (48,72%), com idade entre 3 meses e 14 anos completos, com média de idade de 42,42 meses; e 20 pacientes do sexo feminino (51,28%), com idade entre 2 meses e 2 anos, com média de idade de 17,61 meses. A Avaliação do Comportamento Auditivo foi realizada em 18 crianças, Emissões Otoacústicas Transientes em 23, Audiometria Tonal em 1 e Avaliação pelo Audiômetro Pediátrico em 15 crianças. Todos os exames audiológicos apresentaram-se dentro dos padrões de normalidade ou adequados para a idade do participante.

**CONCLUSÃO:** Os pacientes com DB parcial ou profunda não apresentaram perdas auditivas aos exames realizados. Este trabalho destaca a importância do acompanhamento Fonoaudiológico para diagnosticar precocemente as perdas auditivas, independentemente da classificação da DB, em parcial ou profunda, ou do paciente estar ou não em tratamento. É preciso considerar que a perda auditiva em pacientes com DB pode não se manifestar de forma precoce, mas sim, de forma tardia, de modo que o acompanhamento audiológico deve ser realizado com avaliações periódicas.

**DESCRITORES:** Perda auditiva, Triagem neonatal, Deficiência de Biotinidase, Transtornos da audição.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Biotinidase (BD) deficiency is an autosomal recessive disorder that occurs due to the failure to recycle the B complex vitamin (biotin, vitamin B7 or Vitamin H). Biotinidase (biotin-amido-hydrolase) (EC3.5.1.12) is the enzyme that recycles the vitamin biotin, which can be obtained through food, by recycling after use by the body or through the production of intestinal microbiota. Biotinidase deficiency, when left untreated between the second and fifth month of life, can lead to changes such as developmental delay, alopecia, skin lesions, optic nerve atrophy, ataxia, hypotonia, seizures, respiratory problems such as hyperventilation, laryngeal stridor, apnea and hearing loss. The diagnosis is made in the Neonatal Screening through the serum dosage of Biotin, which will characterize the patient as having the Partial (DPaB) or Deep (DPB) form. Gene mapping is also performed to better understand the interactions between disease phenotype and genotype. The treatment is through the supplementation of Biotin orally, started soon after the diagnosis.

**OBJECTIVES:** To evaluate the hearing of patients from newborns to adolescents, with partial and profound Biotinidase deficiency, undergoing treatment with Biotin supplementation.

**METHODS:** A total of 42 patients were evaluated, and pertinent audiological assessments and tests were performed, according to the participant's age. The following audiological tests were performed: assessment of auditory behavior, immittance testing, tonal and vocal audiometry, and transient otoacoustic emissions. These data were entered into an Excel spreadsheet version 16.50 and statistically analyzed using the SPSS 25.0 software, considering a significance level of 5% in the analyses.

**RESULTS:** The final sample included 39 patients aged between 2 months and 14 years, with a mean age of 82.34 months. Of the participants, 19 were male (48.72%), aged between 3 months and 14 completed years, with a mean age of 42.42 months; and 20 female patients (51.28%), aged between 2 months and 2 years, with a mean age of 17.61 months. The Auditory Behavior Assessment was performed in 18 children, Transient Otoacoustic Emissions in 23, Tonal Audiometry in 1 and Pediatric

Audiometer Assessment in 15 children. All audiological tests were within normal limits or appropriate for the participant's age.

**CONCLUSION:** Patients with partial or profound BD did not present hearing loss in the exams performed. This work highlights the importance of speech therapy monitoring to diagnose hearing loss early, regardless of the classification of BD, in partial or profound, or whether the patient is undergoing treatment or not. It is necessary to consider that hearing loss in patients with BD may not manifest early, but rather late, so that audiological follow-up should be continuous, with periodic assessments.

**Key words:** Hearing loss, Neonatal screening, Biotinidase deficiency, Hearing disorders.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma dos artigos selecionados..... 21

### **Artigo 1**

Figura 1. Desenvolvimento normal do comportamento auditivo segundo Northern & Downs..... 42

### **Artigo 2**

Figura 1. Desenvolvimento normal do comportamento auditivo segundo Northern & Downs..... 63

Figura 2. Fluxograma da seleção da amostra com base nos exames audiológicos realizados de acordo com cada paciente..... 65

Figura 3. Fluxograma da seleção da amostra com base nos exames audiológicos realizados de acordo com cada paciente..... 66

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### Revisão Bibliográfica

Tabela 1. Identificação dos estudos.....	22
Tabela 2. Síntese dos artigos que atendem a pergunta de pesquisa: achados audiológicos.....	25

### Artigo 1

Tabela 1. Valores de referência para triagem neonatal: dosagem quantitativa de Biotinidase, no sangue seco em papel filtro.....	37
Tabela 2. Valores de referência para dosagem da atividade enzimática quantitativa, confirmatória da DB.....	37
Tabela 3. Atividade média de Biotinidase para várias categorias de indivíduos.....	38
Tabela 4. Média de idade do diagnóstico e da realização das avaliações auditivas propostas, de acordo com o sexo.....	43
Tabela 5. Comparação das bandas de frequência entre orelhas direita e esquerda dos participantes.....	43

### Artigo 2

Tabela 1. Valores de referência para triagem neonatal: dosagem quantitativa de Biotinidase, no sangue seco em papel filtro.....	54
Tabela 2. Guidelines segundo recomendação da American College of Medical Genetic and Genomics.....	55
Tabela 3. Desenvolvimento Auditivo Normal na Infância.....	57
Tabela 4. Recomendações para Crianças com Desenvolvimento Anormal da Fala.....	58
Tabela 5. Marcos de Desenvolvimento para Comunicação e Linguagem.....	58
Tabela 6. Características gerais dos dados das Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT).....	67

Tabela 7. Média dos níveis mínimos de audição encontrados com o uso do audiômetro pediátrico.....	69
---	----

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CCE – Células Ciliadas Externas

CCI – Células Ciliadas Internas

DB – Deficiência de Biotinidase

DNA – Ácido desoxirribonucléico

DNPM – Desenvolvimento neuropsicomotor

DPaB – Deficiência Parcial de Biotinidase

DPB – Deficiência Profunda de Biotinidase

EOA – Emissões Otoacústicas

EOAT – Emissões Otoacústicas Transientes

NUPAD – Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico

PA – Perda Auditiva

PEATE – Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico

PTN – Programa de Triagem Neonatal

TAN – Triagem Auditiva Neonatal

TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

RCP – Reflexo Cócleo-Palpebral

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	22
<b>3. OBJETIVOS</b>	
<b>3.1 – Objetivos Gerais</b> .....	30
<b>3.2 – Objetivos Específicos</b> .....	30
<b>4. MÉTODOS</b>	
<b>4.1 – Delineamento</b> .....	30
<b>4.2 – Critérios de Inclusão e Exclusão</b> .....	31
<b>4.3 – Amostra</b> .....	31
<b>4.4 – Procedimentos</b> .....	31
<b>4.5 – Análise Estatística</b> .....	31
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	32
<b>6. RESULTADOS</b>	
<b>6.1 – Artigo 1- Avaliação Audiológica em Lactentes com Deficiência de Biotinidase em Tratamento</b> .....	36
<b>6.1.1 – Resumo</b> .....	36
<b>6.1.2 – Abstract</b> .....	37
<b>6.1.3 – Introdução</b> .....	38
<b>6.1.4 – Métodos</b> .....	40
<b>6.1.5 – Resultados</b> .....	43
<b>6.1.6 – Discussão</b> .....	46
<b>6.1.7 – Conclusão</b> .....	49
<b>6.1.8 – Referências</b> .....	50
<b>6.2 – Artigo 2 - Análise Audiológica em Pacientes com Deficiência de Biotinidase, seja na forma Parcial ou Profunda, em Tratamento</b> .....	53
<b>6.2.1 – Resumo</b> .....	53
<b>6.2.2 – Abstract</b> .....	54
<b>6.2.3 – Introdução</b> .....	55
<b>6.2.4 – Métodos</b> .....	61
<b>6.2.5 – Resultados</b> .....	66
<b>6.2.6 – Discussão</b> .....	71
<b>6.2.7 – Conclusão</b> .....	74

<b>6.2.8 – Referências.....</b>	<b>77</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>81</b>
<b>8. ANEXOS</b>	
<b>8.1 – Termo de aprovação do projeto de pesquisa no COEP.....</b>	<b>82</b>
<b>8.2 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE para pais ou responsáveis.....</b>	<b>88</b>
<b>8.3 – Anamnese Audiológica Infantil.....</b>	<b>90</b>
<b>8.4 – Protocolo de percepção auditiva dos pais de crianças com DB...</b>	<b>91</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A deficiência de Biotinidase (DB) é um erro inato do metabolismo, de herança autossômica recessiva, que ocasiona deficiência orgânica de Biotina. Quando não tratada, manifesta-se pelo aparecimento de sinais e sintomas compatíveis com a deficiência vitamínica, o que acontece, em geral, nos primeiros meses de vida<sup>1</sup>.

A Biotina é uma vitamina do complexo B, solúvel em água, que é obtida por meio dos alimentos pela produção da microbiota intestinal e, ainda, pela reciclagem após o uso pelo organismo. A absorção intestinal da Biotina é propiciada pela ação da Biotinidase, enzima essencial à liberação da vitamina dos alimentos. Sem a ação enzimática a Biotina ingerida não é absorvida e é perdida pelas fezes. A mesma enzima também é responsável por reciclar a Biotina, após utilização metabólica<sup>1,2</sup>.

Além da doença hereditária, existem situações, também bastante raras, em que a deficiência da Biotina pode se manifestar como nos casos em que existe desvio na alimentação – ingestão de grandes quantidades de clara de ovo crua, rica em avidina, proteína que diminui a biodisponibilidade de Biotina -, uso prolongado de nutrição parenteral total, sem reposição adequada, ou ainda o uso de determinados medicamentos como alguns antiepilépticos (carbamazepina, fenitoína, primidona) e antibióticos<sup>2</sup>.

A DB pode ser diagnosticada de forma eficaz pelo exame de triagem neonatal, possibilitando o diagnóstico em tempo oportuno para início do tratamento. O diagnóstico é estabelecido quando a atividade da Biotinidase é menor que 30% da média de um indivíduo normal, podendo ser classificada em parcial e profunda. A deficiência parcial de Biotinidase (DPaB) acontece quando a atividade enzimática se encontra entre 10% e 30% do esperado e a deficiência profunda de Biotinidase (DPB) quando a atividade da Biotinidase é inferior a 10% daquela considerada normal.<sup>3,4</sup>

A deficiência da Biotina pode causar alterações orgânicas que comprometem o organismo de forma global. Em geral, as manifestações clínicas aparecem nos primeiros meses de vida, podendo, no entanto, ocorrer mais tardiamente na infância e adolescência, ou até mesmo nunca se manifestar. Entre as manifestações clínicas da DB encontram-se problemas que podem ocasionar a diminuição ou perda da audição<sup>2,3</sup>. Entretanto, se tratada após o início sintomatológico, é possível observar a remissão de algumas alterações encontradas, como alopecia e dermatite, por

exemplo<sup>2</sup>. As manifestações sintomatológicas decorrentes da doença podem ocorrer em ambas as formas com que a DB se manifesta, tanto parcial quanto profunda<sup>3,4</sup>.

A DB pode ser suspeitada pela dosagem da quantidade de atividade da enzima Biotinidase no sangue do recém-nascido. Quando no teste de triagem neonatal – “teste do pezinho” - um primeiro exame é considerado positivo, solicita-se uma segunda amostra para nova dosagem. Se este exame é novamente positivo, encaminha-se a criança para consulta médica e realização de exame de dosagem quantitativa sérica de Biotinidase para confirmar ou afastar a doença<sup>4</sup>.

As manifestações clínicas aparecem geralmente entre o segundo e o sexto meses de vida, em geral após esgotamento do estoque de Biotina adquirido intra-útero. A DB pode ter manifestações distintas mesmo entre indivíduos da mesma família, desde quadros com um ou dois sinais/sintomas clínicos até aqueles exuberantes, com o conjunto completo da doença. Existem ainda adultos com genética compatível com a doença, mas que nunca a manifestaram<sup>4,5</sup>.

A literatura apresenta casos de DB identificados na idade adulta ou acompanhados até essa faixa etária e que permanecem assintomáticos. É possível haver atividade enzimática residual, fatores dietéticos e/ou epigenéticos, que poderiam proteger esses indivíduos assintomáticos. Entretanto, até o momento, os reais fatores que precipitariam manifestações clínicas em indivíduos com DB assintomáticos são desconhecidos e eles podem desenvolver sintomas em qualquer idade<sup>5</sup>.

O uso de Biotina, pelo paciente, não interfere na concentração sérica da Biotinidase cuja atividade está correlacionada a vários fatores, incluindo idade, sexo e capacidade de síntese de proteína hepática. Estudo molecular e genético, para identificação das mutações, deve ser feito, confirmando a doença<sup>4,5</sup>. Tais exames confirmatórios são essenciais, uma vez que a prematuridade e a desnutrição intra-útero, além de erros de coleta e de análise laboratorial são as principais causas de falsos positivos<sup>1,4,5</sup>.

O tratamento é feito pelo uso medicamentoso de Biotina livre, na forma sólida, para que o paciente afetado absorva a vitamina de maneira adequada. A dose varia de 5 a 30 mg/dia, via oral, independentemente da idade e do peso. O uso de soluções da vitamina não é indicado devido à instabilidade do produto, o que pode ocasionar deficiência da dose ingerida<sup>2,4</sup>.

Desde 2013, o Nupad/FM/UFMG realiza a triagem neonatal para deficiência de Biotinidase em todo o estado de Minas Gerais pelo Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PTN-MG). Até novembro de 2021, 1927264 recém-nascidos foram triados para DB, dos quais 149 apresentam a doença e encontram-se em acompanhamento pediátrico para tal.

Em consultas pediátricas de acompanhamento dos pacientes, percebeu-se queixas de pais acerca da atenção e possíveis déficits auditivos das crianças com DB. Como a deficiência auditiva pode passar despercebida pelo acompanhamento clínico do tratamento, optou-se pela realização do presente estudo.

As manifestações clínicas da DB incluem: perda de cabelo em intensidade variada, atraso no desenvolvimento, hipotonia muscular, crises epiléticas, lesões de pele, infecções recorrentes e maior susceptibilidade às infecções fúngicas, conjuntivite, deficiência auditiva, letargia, problemas respiratórios, anormalidades visuais, dificuldades de alimentação<sup>3,6</sup>. Verifica-se a perda auditiva como importante marco sintomático nestes pacientes e ainda são escassos na literatura estudos que relacionem a perda auditiva e deficiência de Biotinidase. Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar a audição de recém-nascidos, lactentes, crianças e adolescentes com diagnóstico de DB. Identificar precocemente alterações na via auditiva possibilitará desenvolver novas abordagens terapêuticas e recursos auxiliares que poderão minimizar os déficits provocados pela DB na audição das crianças.

Neste contexto, a ação da fonoaudiologia juntamente com a equipe de saúde envolvida (pediatra, geneticista, nutrólogo, nutricionista, assistente social e psicólogo), favoreceria um tratamento mais adequado, com maior benefício às crianças com DB. Este estudo irá contribuir para um melhor conhecimento das consequências impostas pela DB em crianças, mesmo naquelas que recebem tratamento precoce e adequado.

Os resultados da dissertação foram concebidos em formato de dois artigos originais de pesquisa, com vistas à publicação em periódicos indexados de expressão nacional e internacional.

**O Artigo 1 (item 4.1) obedeceu as normas para publicação na Revista CEFAC (ISSN: 1982-0216; Qualis B1 nacional)**

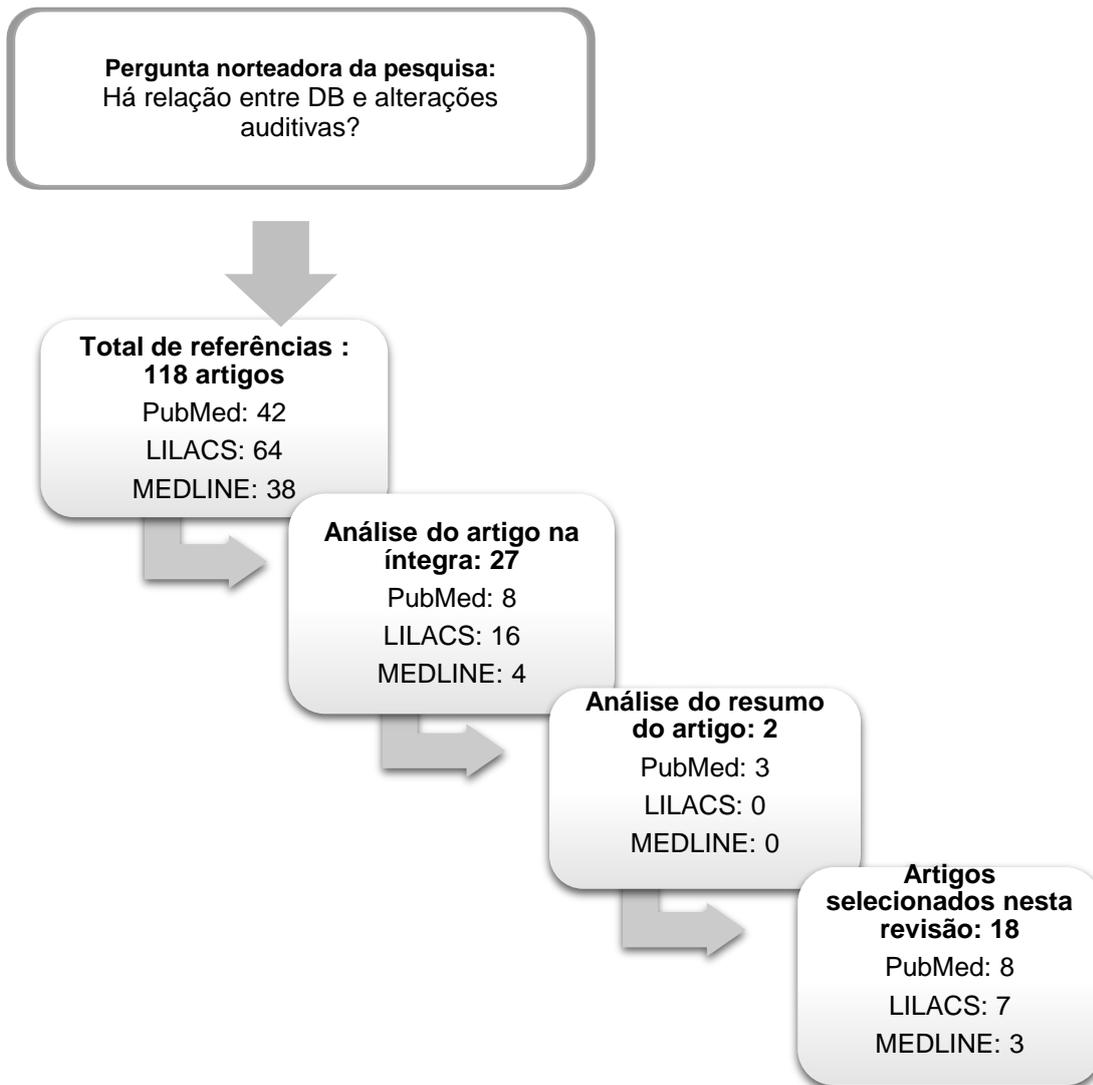
**O Artigo 2 (item 4.2) obedeceu as normas para publicação na Revista CEFAC (ISSN: 1982-0216; Qualis B1 nacional)**

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Como base teórica, dada a escassez de trabalhos na literatura, valeu-se de uma pergunta-chave mais abrangente, a fim de se obter uma maior gama de trabalhos, conforme demonstra o fluxograma 1.

Foram utilizados descritores MeSH, da US *National Library of Medicine*, para a plataforma PubMed. Na plataforma BVS-LILACS, utilizou-se os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): Testes de impedância acústica, Pessoas com Deficiência Auditiva, Audição, Transtornos da audição, Perda auditiva, Deficiência da Biotinidase e Biotinidase, em português, em inglês e espanhol, combinados entre si com a utilização dos operadores booleanos AND e OR. Outra estratégia utilizada foi a busca em listas de referências dos artigos identificados e selecionados<sup>7</sup>.

Foram incluídos estudos publicados entre 2014 e 2019, em inglês, que respondiam à questão de pesquisa, estudos realizados com indivíduos de qualquer idade diagnosticados com DB, estudos clínicos que realizaram avaliação da função auditiva em pacientes com DB e estudos pioneiros que possuem grande valor metodológico e científico. Os critérios de exclusão foram estudos sem descrição da metodologia utilizada, estudos que não especificavam as alterações audiológicas e que não respondiam à pergunta de pesquisa.



**Figura 1.** Fluxograma dos artigos selecionados.

Foram incluídos estudos observacionais, estudo de série de casos e relatos de caso. Os estudos observacionais foram analisados por meio da leitura dos títulos, do texto completo dos artigos, de acordo com o proposto pela Iniciativa *Strengthening them Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE)<sup>9</sup>, que foi elaborada com o objetivo de ajudar na qualidade da descrição dos estudos. Para análise dos achados obtidos em todos os estudos, foi realizado um banco de dados por meio de tabelas, para identificação dos estudos conforme seu autor, ano, país, título, objetivo, método, resultados, discussão e se atendia (A) ao critério proposto pela pergunta de pesquisa ou se atendia parcialmente (AP), conforme explicitado na Tabela 1.

Tabela 1–Identificação dos estudos.

<b>Autor, ano e país</b>	<b>Título</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Delineamento</b>	<b>Resultados</b>	<b>Discussão</b>	<b>A AP</b>
<i>Wolf et al., 1983, EUA<sup>10</sup></i>	Hearing Loss in Biotinidase Deficiency	Diagnosticar a origem da PA.	Relato de caso	A relação entre PA e acúmulo de peptídeos de Biotina e demais erros inatos do metabolismo podem estar envolvidos na PA.	O uso da Biotina como tratamento não melhorou a PA dos quatro casos avaliados.	A
<i>Taitz et al., 1985, Reino Unido<sup>11</sup></i>	Long-term auditory and visual complications of Biotinidase	Avaliar as causas e consequências do tratamento da Biotinidase	Estudo de caso	O nervo ótico e o auditivo podem sofrer danos permanentes se diagnóstico foi realizado após o primeiro ano de vida.	O excesso de Biotina associada a DB leva as alterações visuais e auditivas que surgem após o período do primeiro ano de vida.	A
<i>Heller et al., 2002, EUA<sup>12</sup></i>	Localization of Biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in Biotinidase deficiency	Determinar a expressão e localização da Biotinidase no cérebro de ratos, especificamente nas vias auditivas.	Observacional	Observou-se expressão baixa, mas detectável, da Biotinidase em todo o cérebro. Maiores concentrações ocorreram no núcleo coclear dorsal, ventral, núcleo olivar superior, células ciliadas e gânglio espiral da cóclea.	A deficiência de Biotina se não tratada pode gerar PA, mas, o tratamento com Biotina pode retardar a lesão nas vias estudadas. A atividade enzimática está concentrada principalmente na cóclea (CCI).	AP
<i>Wolf et al., 2002, EUA<sup>13</sup></i>	Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound Biotinidase deficiency	Investigar a incidência de PA na população com DB e comparar os achados com indivíduos sem perda de audição.	Observacional retrospectivo	Observou-se que todas as crianças com DPB tardiamente diagnosticadas apresentaram PA, alterações de fala e atraso desenvolvimento escolar.	Achados bioquímicos e genéticos não correlacionam com a PA. Alguns casos permaneceram sintomáticos.	A
<i>Tsao et al., 2002, EUA<sup>14</sup></i>	Complete Biotinidase Deficiency Presenting as Reversible Progressive Ataxia and Sensorineural Deafness	Avaliar a ocorrência de PA e ataxia	Relato de Caso	Observou-se sintoma de ataxia, PA neurosensorial e malformação de Chiari I.	Após administração de 5mg de Biotina, pode-se observar que os sintomas melhoraram completamente em 8 meses.	A
<i>Weber et al., 2004, Suíça<sup>15</sup></i>	Outcome in patients with profound Biotinidase	Analisar dados de indivíduos com DPB diagnosticados e	Observacional	A maior parte das crianças que apresentaram atraso no DNPM	Podem ocorrer alterações nas atividades enzimáticas que definem a	AP

	deficiency: relevance of newborn screening	tratados após triagem neonatal, com atividade enzimática residual e atraso no DNPM.		tiveram atividade enzimática residual de <1% e não foram diagnosticados pelo PTN.	sintomatologia, principalmente neurológica.	
<i>Sivri et al., 2007, Turqui</i> <sup>16</sup>	Hearing Loss in Biotinidase Deficiency: Genotype-Phenotype Correlation	Avaliar a relação entre a perda de audição e achados genótipo-fenótipo, em 20 crianças com DPB.	Observacional	Mutações nulas apresentaram PA e mutações missenses não apresentaram PA.	Correlação direta entre a PA e tipos de mutações. Foram encontradas PA de todos os graus apenas na mutação nula.	A
<i>Welling, 2007, EUA</i> <sup>17</sup>	Long-Term Follow-Up of Hearing Loss in Biotinidase Deficiency	Avaliar o caso de um paciente ao nascimento e reavaliar aos 10 anos	Relato de caso	PA neurossensorial estabilizada aos 10 anos.	Apesar das alterações auditivas terem estabilizado, após tratamento, pode-se observar ao longo dos anos que a PA em altas frequências foi observada.	A
<i>Sarafoglou et al., 2009, EUA</i> <sup>18</sup>	High incidence of profound Biotinidase deficiency detected in newborn screening blood spots in the Somalian population in Minnesota	Avaliar a incidência da DPB na população de indivíduos somalianos que residem em Minnesota.	Observacional coorte	Dos 267.727 somalis, 33 indivíduos foram positivos para DB. 26 destas tiveram atividade enzimática <10%, classificando-as como DPaB e 7 crianças de 10 a 25%, indicando DPB.	A incidência da DPB em Minnesota é alta, principalmente com relação aos achados epidemiológicos mundiais. Com relação aos sintomas dos indivíduos da amostra, a PA não é mencionada.	AP
<i>Bhat et al., 2015, Índia</i> <sup>19</sup>	ENT Considerations in Biotinidase Deficiency	Relatar o caso de uma criança sem diagnóstico da DB.	Relato de caso	Criança apresentou espasmos aos 2 anos e meio. Após tratamento com 15mg de Biotina observou-se PA neurossensorial moderada bilateral.	O tratamento com a Biotina de forma precoce tem bons resultados na sintomatologia. A PA pode não ocorrer se houver intervenção precoce.	A
<i>Vallejo-Torres et al., 2015, Espanha</i> <sup>20</sup>	Cost-Effectiveness Analysis of a National Newborn Screening Program for Biotinidase Deficiency	Analisar o custo-benefício da triagem neonatal para DB no programa nacional da Espanha.	Observacional	O custo-benefício é eficiente pois a triagem é um recurso de baixo custo, uma vez que a DB pode causar graves consequências permanentes. Casos detectados através de triagem neonatal e sob o tratamento	A triagem neonatal é 0,70% rentável ao governo em relação aos cuidados com os sintomas clínicos decorrentes da DB não diagnosticada.	AP

			mostram-se assintomático.			
<i>Szymanska et al., 2015, Polónia<sup>21</sup></i>	Outcomes of oral biotin treatment in patients with Biotinidase deficiency -Twenty years follow-up	Avaliar 22 pacientes diagnosticados com DB	Observacional	A avaliação anual dos 22 pacientes, por 20 anos, identificou média de diagnóstico, tratamento e a interferência no surgimento dos sintomas.	A administração imediata após confirmação da DB melhorou todos os sintomas dos indivíduos sintomáticos. A PA permaneceu inalterada, A mutação Asp444His foi encontrada em pacientes homocigóticos e heterocigóticos. A homocigose para a mutação p.Leu215Phe no gene DPB está relacionada diretamente a perda de audição.	AP
<i>Cabasson et al., 2015, França<sup>22</sup></i>	Spinal Cord Lesions Associated with Skin Changes and Hearing Loss: Think of Biotinidase Deficiency	Analisar o caso de uma criança de 4 anos sem diagnóstico da DB	Relato de caso	O caso relata a manifestação clínica severa da DB com melhora drástica dos sintomas agudos após terapia com Biotina. Não houve melhora da PA (30dB) mas não houve progressão.	A triagem neonatal na França não possui teste para DB o que dificulta o tratamento da doença. As alterações com tetraparesia espástica são menos relatadas na literatura,mas ocorreram neste caso.	A
<i>Talebi et al., 2016, Irã<sup>23</sup></i>	Auditory Neuropathy/Dyssynchrony in Biotinidase Deficiency	Analisar o caso de uma criança não diagnosticada com DB	Relato de Caso / Transversal	Investigar possível neuropatia auditiva sintomática após dois anos de vida.	Sugere-se que a DB acomete as vias nervosas causando uma neuropatia auditiva.	A
<i>Wiltink et al., 2016, Países Baixos<sup>24</sup></i>	Neonatal screening for profound Biotinidase deficiency in the Netherlands: consequences and considerations	Avaliar os resultados da inclusão da triagem neonatal nos Países Baixos	Observacional	Dos 304.982 RN triados, 92 foram identificados com DB, 6 com DPB e 44 com DPaB. O sintoma estatisticamente significativo foi apenas erupções cutâneas. As mutações mais comuns foram c.[1330G4C] e p.Asp444His. Sete novas mutações foram observadas.	Desde a introdução da DB na triagem neonatal foram identificados vários RN que tiveram a intervenção adequada.	AP

<i>Wolf, 2017, EUA<sup>25</sup></i>	Successful outcomes of older adolescents and adults with profound Biotinidase deficiency identified by newborn screening	Observar os sintomas de indivíduos adultos e adolescentes que receberam o diagnóstico e tratamento após triagem neonatal	Análítico transversal	Foram avaliados 44 indivíduos com DPB, entre 22 e 23 anos. Os sintomas mais comuns apareceram após interrupção da medicação. Apenas três indivíduos tiveram PA como sintoma fixo.	Observa-se que a triagem neonatal e tratamento precoce garantem vida normal aos indivíduos que possuem DPB.	AP
<i>Maheras et al., 2017, EUA<sup>26</sup></i>	Developmental window of sensorineural deafness in Biotinidase-deficient mice	Analisar o sistema auditivo em camundongos com DPB	Observacional Coorte	Foram realizadas avaliações por meio do PEATE. Há vulnerabilidade transitória da atividade enzimática no tronco cerebral.	Observa-se que a maioria das alterações ocorrem nas vias auditivas centrais bem como estão associadas a manifestação precoce da doença em tronco cerebral devido a maturação auditiva ser vulnerável a ação enzimática da Biotina.	A
<i>Rajan et al., 2019, Índia<sup>27</sup></i>	Congenital Biotinidase deficiency – MRI findings in two cases	Analisar ressonância magnética por difusão em dois casos confirmados de DB.	Relato de caso	No estágio inicial da DB foi observado mielinização tardia, difusão reduzida, atrofia cerebral e aumento da anisotropia fracionada na substância branca profunda, nos dois casos reportados.	O uso da ressonância magnética pode ser útil na configuração das manifestações clínicas.	AP

**Legenda:**PA=Perda auditiva A=Atende AP= Atende parcialmente.

**Tabela 2** – Síntese dos artigos que atendem a pergunta de pesquisa: achados audiológicos.

<i>Autor, ano e país</i>	<b>Delineamento</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Conclusão</b>	<b>Achados Audiológicos</b>	<b>Instrumento de avaliação</b>	<b>Exame anexo</b>
<i>Wolf et al., 1983, EUA<sup>10</sup></i>	Relato de caso	Diagnosticar a origem da PA.	Causa da PA indefinida. Supõe-se que a causa seja o acúmulo de peptídeos de Biotina (s-N-biotinyl-L-lisina)	PA neurosensorial antes do tratamento e inalterado após o tratamento.	Não mencionado	N
<i>Taitz et al., 1985, Reino Unido<sup>11</sup></i>	Estudo de caso	Avaliar as causas e consequências do tratamento da Biotinidase na PA	O nervo auditivo pode sofrer danos permanentes se diagnóstico tardio <1 ano.	PA neurosensorial severa.	Audiometria	N

<i>Wolf et al., 2002, EUA</i> <sup>13</sup>	Observacional retrospectivo	Investigar a incidência de PA na população com DB bem como comparar os achados com indivíduos sem perda de audição.	Todas as crianças do estudo apresentaram PA.	PA neurossensorial, de grau moderado a severo, bilateral.  PA isolada em altas frequências.	Audiometria	N
<i>Tsao et al., 2002, EUA</i> <sup>14</sup>	Relato de Caso	Avaliar a ocorrência de PA e ataxia	Após suplementação a criança apresentou limiares auditivos dentro dos padrões de normalidade.	PA neurossensorial de grau moderado bilateralmente.  PA isolada nas frequências de 1K a 4k Hz	Não mencionado	N
<i>Sivri et al., 2007, Turquia</i> <sup>16</sup>	Observacional	Avaliar a relação entre a perda de audição e achados genótipo-fenótipo, em 20 crianças com DPB	Crianças sintomáticas que possuem duas mutações nulas (homozigotos) estão mais suscetíveis a desenvolver PA. O tratamento com Biotina pode retardar a PA, estabilizá-la ou impedir que ocorra.	PA neurossensorial, bilateral de grau moderado a profundo.	Não mencionado	N
<i>Welling, 2007, EUA</i> <sup>17</sup>	Relato de caso	Avaliar o caso de um paciente avaliado ao nascimento e reavaliado aos 10 anos	PA estabilizada após tratamento.	PA neurossensorial bilateral de grau moderado a severo. PA profunda em altas frequências.	Audiometria	S
<i>Sarafoglou et al., 2009, EUA</i> <sup>18</sup>	Observacional Coorte	Avaliar a incidência da DPB na população de indivíduos somalianos que residem em Minesota.	Dos 267.727 somalis, 33 indivíduos foram positivos para DB. 26 destas tiveram atividade enzimática <10%, classificando-as como DPaB e 7 crianças de 10 a 25%, indicando DPB.	A incidência da DPB em Minesota é alta, principalmente com relação aos achados epidemiológicos mundiais. Com relação aos sintomas dos indivíduos da amostra, a PA não é mencionada.	Não mencionado	AP
<i>Bhat et al., 2015, Índia</i> <sup>19</sup>	Relato de caso	Relatar o caso de uma criança sem diagnóstico da DB.	PA pode ser progressiva e flutuante mesmo se houver suplementação, porém, estabiliza em determinado momento.	PA neurossensorial moderada bilateral. BERA Alterado, sugestivo de latência das vias auditivas centrais.	Audiometria  BERA	S

<i>Cabasson et al., 2015, França</i> <sup>22</sup>	Relato de caso	Avaliar o caso de uma criança de 4 anos sem diagnóstico da DB	Melhora dos demais sintomas após suplementação com Biotina e estabilização da PA.	PA neurossensorial bilateral leve	Audiometria	N
<i>Talebi et al., 2016, Irã</i> <sup>23</sup>	Relato de caso	Avaliar o caso de uma criança não diagnosticada com DB	Audição flutuante sugestivo de neuropatia aditiva.	PA neurossensorial severa/profunda bilateralmente PEATE alterado em ondas IV e V Curva A Reflexos ausentes EOAT presentes	Imitanciometria Reflexo estapediano VRA (Audiometria) PEATE EOAT	N
<i>Maheras et al., 2017, EUA</i> <sup>26</sup>	Observacional / coorte	Analisar o sistema auditivo em camundongos com DPB**	A PA neurossensorial pode ser redefinida de acordo com o período de suplementação com Biotina. A latência das respostas em vias auditivas podem ser alteradas.	PEATE apresentou latência da onda V em ratos sem tratamento e em onda I nos ratos com tratamento.	PEATE	N

**Legenda:** PA=Perda auditiva S=sim, N=não

Entre os 18 estudos analisados, os estudos que atendiam parcialmente ao tema proposto (n=8), citavam alterações audiológicas, analisavam as bases genéticas, expressões moleculares e bioquímicas, mas não possuíam como tema investigar a relação com as alterações auditivas.

Em relação aos estudos selecionados de acordo com o tema proposto, foram analisados 10 que apresentaram informações audiológicas e de vias auditivas de forma específica. Dentre estes, dois foram realizados em camundongos, mas foram incluídos na revisão uma vez que apresentaram resultados expressivos (Tabela 2). Nos estudos observacionais todos os critérios foram cumpridos de acordo com a forma de análise proposta<sup>7</sup>.

## 1. OBJETIVOS

### 3.1- Objetivos gerais

Avaliar a audição de recém-nascidos, lactentes, crianças e adolescentes com diagnóstico de deficiência de Biotinidase, triados pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais (PTN).

### 3.2- Objetivos específicos

#### 3.2.1- Artigo 1

- Avaliar a audição de lactentes com diagnóstico de DB independente desta ser do tipo parcial ou profunda.
- Descrever os dados obtidos e observar se mesmo com o tratamento com Biotina, estes apresentam perda auditiva.

#### 3.2.2- Artigo 2

- Avaliar a audição dos pacientes com diagnóstico de DB, selecionando os que a possuem na forma parcial e profunda e analisar a diferença entre ambos através dos exames utilizados.
- Descrever os dados obtidos e observar se há diferença entre os pacientes que foram selecionados como elegíveis para este estudo.

## 2. MÉTODOS

### 4.1- Delineamento

Trata-se de um estudo observacional transversal de amostra não probalística. Foram recrutadas crianças com diagnóstico confirmado de DB, tanto na forma parcial quanto na profunda, triadas pelo PETN do Estado de Minas Gerais e atendidas no ambulatório de um grande complexo hospitalar deste estado, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de uma universidade pública sob parecer nº 19595319.7.0000.5149.

## **4.2 - Critérios de Inclusão e Exclusão**

Como critérios de inclusão, considerou-se pacientes com diagnóstico e em tratamento da deficiência de Biotinidase, cujos pais ou responsáveis concordaram com a participação voluntária e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

Foram excluídos da pesquisa pacientes cujos pais apresentaram dificuldade de compreensão do estudo ou pacientes que não colaboraram com a realização dos exames, impossibilitando a aquisição de resultados consistentes ou que apresentavam afecções de orelha externa e média vistas à meatoscopia.

## **4.3 - Amostra**

O recrutamento de pacientes ocorreu de março de 2019 a novembro de 2021, num total de 42 crianças elegíveis ao estudo proposto, de idades diversas, das quais 39 delas compuseram a amostra final.

## **4.4 - Procedimentos**

Foi realizada a inspeção visual do meato acústico externo, seguido da realização de Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT), Avaliação do Comportamento Auditivo e Audiometria Tonal Limiar destas crianças, considerando a idade de cada uma e a disposição das mesmas para tais procedimentos, além da coleta de dados como idade de diagnóstico e instituição do tratamento a base de Biotina.

## **4.5 - Análise Estatística**

As informações coletadas foram lançadas em planilha e a análise estatística dos resultados foi realizada por meio do programa específico para essa finalidade. O *software* escolhido para a análise descritiva foi o SPSS 25.0 para variáveis de amostra isolada, como média, mediana e comparação de variáveis de interesse, considerando o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) e intervalos de confiança de 95% em todas as análises.

## 5. REFERÊNCIAS

- 1- Wolff B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. J Inher Metab Dis. 2001; 39:35-62.
- 2- Wolf B. Biotinidase deficiency: if you have to have an inherited metabolic disease, this is the one to have, Genet Med. 2012; 14: 565–575.
- 3- Lara MT, Gurgel-Giannetti J, Aguiara MJ, et al. High incidence of Biotinidase deficiency from a pilot newborn screening study in Minas Gerais, Brazil. JIMD Rep 2015;24:103–107
- 4- Arantes RR, Rodrigues VM, Norton RC, Starling ALP. Deficiência de Biotinidase: da triagem neonatal à confirmação diagnóstica e ao tratamento. Revista Médica de Minas Gerais 2016; 48-51.
- 5- Lara MT. Triagem neonatal para deficiência de Biotinidase no estado de Minas Gerais [Dissertação]. Belo Horizonte: Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2010. 102 p.
- 6- Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound Biotinidase deficiency. J Pediatr. 2002; 140(2):242-6.
- 7- Sampaio, RF, & Mancini, MC. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. Brazilian Journal of Physical Therapy, 2007;11(1), 83-89.
- 8- The Joanna Briggs Institute. (2017). JBI Critical Appraisal Checklist for Cohort Studies. The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews. Acesso em 8 de fevereiro de 2021. Disponível em [https://joannabriggs.org/ebp/critical\\_appraisal\\_tools](https://joannabriggs.org/ebp/critical_appraisal_tools).
- 9- Malta M, Cardoso LO, Bastos FI, Magnanini MMF, Silva CMFP, Iniciativa: subsídios para a comunicação de estudos observacionais. Ver. Saúde Pública. 2010;44(3):559-65.
- 10- Wolf B., Grier R.E., Heard G.S. Hearing loss in Biotinidase deficiency. The Lancet 1983 ;10:1366-67.
- 11- Taitz LS, Leonard JV , Bartlett K. Long-term auditory and visual complications of Biotinidase deficiency. Early Human Development 1985; 11:325-331.

- 12- Heller AJ , Stanley C , Shaia WT , Sismanis A , Spencer RF , Wolf B . Localization of Biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in Biotinidase deficiency. *Hear Res.* 2002;173(1-2):62-8.
- 13- Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound Biotinidase deficiency. *J Pediatr.* 2002; 140(2):242-6.
- 14- Tsao CY, Kien CL. Complete Biotinidase Deficiency presenting as reversible progressive ataxia and sensorineural deafness. *Journal of Child Neurology*, 2002;17:2.
- 15- Weber P, Scholl S, Baumgartner E. R. Outcome in patients with profound Biotinidase deficiency: relevance of newborn screening. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 2004; 46:481–484.
- 16- Sivri HS, Genc GA, Tokatli A, et al. Hearing loss in Biotinidase deficiency: genotype-phenotype correlation. *J Pediatr* 2007;150:439–442.
- 17- Welling DB. Long-term follow-up of hearing loss in Biotinidase deficiency. *J Child Neurol.* 2007; 22(8):1055-7.
- 18- Sarafoglou K, Bentler K, Gaviglio AK, Redlinger-Grosse CA, McCann M, Bloom B, Babovic-Vuksanovic B, Gavrilov D, Berry SA. High incidence of profound Biotinidase deficiency detected in newborn screening blood spots in the Somalian population in Minnesota. *J Inherit Metab Dis.* 2009; 32(Suppl1):169–173.
- 19- Bhat N, Dhotre R, Tawade H. ENT considerations in Biotinidase deficiency. *Astrocyte.* 2015;2:101-2.
- 20- Vallejo-Torres L, Castilla I, Couce ML, Pérez-Cerdá C, Martín-Hernández E, Pineda M, Campistol J, Arrospide A, Morris S, Serrano-Aguilar P. Cost-Effectiveness Analysis of a National Newborn Screening Program for Biotinidase Deficiency. *Pediatrics*, 2015; 136:2.
- 21- Szymańska E, Średzińska M, Ługowska A, Pajdowska M, Rokicki D, Tylki-Szymańska A . Outcomes of oral biotin treatment in patients with Biotinidase deficiency — Twenty years follow-up . *Mol. Gen. Met Reports* 2015.
- 22- Cabasson S, Rivera S, Mesli S, Dulubac E. Brainstem and Spinal Cord Lesions Associated with Skin Changes and Hearing Loss: Think of Biotinidase. *J Pediatr* 2015;166:771.0022-3476.

- 23- Talebi H, Yaghini O. Auditory Neuropathy/Dyssynchrony in Biotinidase Deficiency. *J Audiol Otol* 2016;20(1):53-54.
- 24- Wiltink RC, Kruijshaar ME, van Minkelen R, Onkenhout W, Verheijen FW, Kemper EA, et al. Neonatal screening for profound Biotinidase deficiency in the Netherlands: consequences and considerations. *EJHG*. 2016; 24(10):1424-9.
- 25- Wolf B. Successful outcomes of older adolescents and adults with profound Biotinidase deficiency identified by newborn screening. *Genet Med* 2017;19:396–402.
- 26- Maheras JK, Pindolia K, Wolf B, Gow A. Developmental window of sensorineural deafness in Biotinidase-deficient mice. *J Inherit Metab Dis* 2017;40:733–744.
- 27- Rajan SR, Taneja S, Singh A, Gupta V. Congenital Biotinidase deficiency – MRI findings in two cases. *Indian Journal of Radiology and Imaging* 2019;29:1

## 6. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em forma de dois artigos que foram produzidos durante a realização do mestrado.

- Artigo 1- **Avaliação Audiológica em Lactentes com Deficiência de Biotinidase em Tratamento** (será submetido à Revista CEFAC).
- Artigo 2- **Avaliação Audiológica em Pacientes com Deficiência de Biotinidase Parcial e Profunda em Tratamento** (será submetido à Revista CEFAC).

## **6.1- Artigo 1: Avaliação Audiológica Em Lactentes Com Deficiência De Biotinidase Em Tratamento**

### **Audiological Assessment In Infant With Biotinidase Deficiency In Treatment**

#### **6.1.1- Resumo**

**Introdução:** A deficiência da Biotinidase (DB) é uma doença de herança autossômica recessiva que ocorre pela falha na reciclagem da vitamina do complexo B. A deficiência da vitamina Biotina, se não tratada precocemente pode acarretar alterações sistêmicas importantes, dentre elas, perda auditiva. O principal objetivo deste estudo é avaliar a audição de crianças até os 24 meses de vida com diagnóstico de DB. **Métodos:** Estudo observacional transversal de amostra não probabilística composta por crianças triadas pelo Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, sob CAAE número 19595319.7.0000.5149. Foram realizados os seguintes exames: avaliação do comportamento auditivo e Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT). **Resultados:** A amostra final contou com 9 participantes, com média de idade de 11,6 meses. A média de idade ao diagnóstico e início do uso da Biotina foi de 34,5 dias. Na avaliação do comportamento auditivo, todas as 9 crianças tiveram reflexo cócleo-palpebral presente e resposta a sons verbais adequada para cada idade. Das 18 orelhas avaliadas, 100% apresentaram EOAT presentes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as bandas de frequência observadas entre os participantes entre orelhas direita e esquerda. **Discussão:** A triagem neonatal é essencial para diagnóstico precoce de DB. Apesar de se apresentar como uma desordem metabólica rara, a incidência da doença é bastante significativa e as alterações provocadas são muito severas se não tratadas. **Conclusão:** Neste estudo, as crianças de até 2 anos diagnosticadas com a DB, em tratamento com Biotina, não apresentaram alterações auditivas.

**Descritores:** Perda auditiva, Triagem neonatal, Deficiência de Biotinidase, Transtornos da audição

### 6.1.2- Abstract

**Introduction:** Biotinidase (BD) deficiency is an autosomal recessive disease that occurs due to the failure to recycle the B complex vitamin. Biotin vitamin deficiency, if not treated early, can lead to important systemic changes, including hearing loss. The main objective of this study is to assess the hearing of children aged up to 24 months with a diagnosis of BD. **Methods:** Cross-sectional observational study of a non-probabilistic sample composed of children screened by the Neonatal Screening Program of the state of Minas Gerais, approved by the Ethics and Research Committee under CAAE number 19595319.7.0000.5149. The following tests were performed: auditory behavior assessment and Transient Otoacústicas Emissions (TOAE). **Results:** The final sample had 9 participants, with a mean age of 11.6 months. The mean age at diagnosis and beginning of biotin use was 34,5 days. In the assessment of auditory behavior, all 9 children had cochlear-palpebral reflex present, and the response to verbal sounds was adequate for each age. Of the 18 ears evaluated, 100% had TEOAE present. There was no statistically significant difference between the frequency bands observed between participants between right and left ears. **Discussion:** Neonatal screening is essential for early diagnosis of BD. Despite presenting itself as a rare metabolic disorder, the incidence of the disease is quite significant, and the alterations caused are very severe if not treated. **Conclusion:** In this study, children up to 2 years old diagnosed with BD, treated with biotin, did not present hearing alterations.

**Key words:** Hearing loss, Neonatal screening, Biotinidase deficiency, Hearing disorders

### 6.1.3- Introdução

A deficiência da Biotinidase (DB) é uma doença de herança autossômica recessiva que ocorre pela falha na reciclagem da vitamina do complexo B (Biotina, vitamina B7 ou Vitamina H)<sup>1</sup>.

A incidência mundial da deficiência da Biotinidase ocorre em 1 a cada 61.000 nos casos de profunda e parcial combinadas, 1 a cada 137.000 para deficiência de Biotinidase profunda e 1 a cada 110.000 para deficiência parcial de Biotinidase<sup>2</sup>. Nacionalmente, há dois estudos recentes que classificam a incidência da doença. Em estudo piloto realizado pelo laboratório do NUPAD -Núcleo de Ações e Pesquisas em Apoio Diagnóstico da Universidade Federal de Minas Gerais, nos anos de 2007 e 2008 revelou-se que as duas formas da doença combinadas ocorrem em 1 a cada 22 mil recém-nascidos vivos<sup>3</sup>. Em 2010, foram triados 182.942 recém-nascidos vivos através do Programa Estadual de Triagem Neonatal (PETN) e a prevalência de doença parcial da Biotinidase foi de 1:18.289 nascidos vivos, sem nenhum caso de deficiência profunda da Biotinidase<sup>4,5</sup>.

A DB pode se apresentar de duas formas: como deficiência profunda de Biotinidase (DPB), na qual dentro dos parâmetros genéticos de normalidade a atividade enzimática é inferior a 10%, ou se apresentar como deficiência parcial de Biotinidase (DPaB), quando a atividade enzimática se encontra entre 10 e 30%<sup>1,2</sup>. As alterações genéticas ocorrem, predominantemente, de maneira heterozigota, através do braço curto do cromossomo 3 (3q25) mapeado no gene BTBD9:609019. Geneticamente, a incidência da doença tem variabilidade de acordo com fatores principalmente culturais da população estudada, uma vez que a consanguinidade ocorre em 20% dos casos<sup>3</sup>. O gene humano que codifica a Biotinidase consiste no exon 4, nos tamanhos 79pb, 265 pb, 150 pb e 1,502 pb<sup>2</sup>.

Atualmente o diagnóstico da DB integra os programas nacionais de triagem neonatal de países como EUA, Canadá, Holanda e Emirados Árabes<sup>6, 7, 8</sup>. No Brasil, desde 2012 a DB é parte integrante do Programa Nacional de Triagem Neonatal<sup>9</sup>. O diagnóstico acontece por meio do método de colorimetria quantitativa, que mensura a atividade da Biotinidase, através da amostra do sangue seco do recém-nascido em papel filtro saturado, sendo o resultado classificado como normal alterado conforme valores de referência demonstrados na tabela 1. O exame falso-positivo pode ocorrer se caso a criança possuir uma concentração de albumina acima do normal, estiver sendo medicada com o uso de ácido valpróico ou em uso de antibióticos. Resultados

falso-negativos ocorrem se houver uma concentração elevada de triglicerídeos devido ao uso de lipídios intravenosos ou concentrado de imunoglobulina<sup>3,10,11</sup>.

Em Minas Gerais, um estudo proposto em 2019 denota que a incidência combinada de deficiência parcial e profunda de Biotinidase foi estimada em 1: 13.909 nascidos vivos (95% limite de confiança 1:11.235 a 1:17.217), muito mais alto do que as taxas de incidência relatadas em outras populações em todo o mundo. O gene com variantes mais observado foi o gene p.D444H. O sequenciamento do gene da Biotinidase é uma ferramenta útil para confirmar o diagnóstico e fornece informações valiosas sobre variabilidade genética entre diferentes populações<sup>12</sup>, sendo esta uma ferramenta importante para obter uma melhor compreensão da correlação entre fenótipo bioquímico e genótipo<sup>13</sup>.

A diminuição da atividade enzimática pode sofrer interferências, como da prematuridade da criança ou disfunção hepática, por exemplo, embora, se todas as variáveis de análise estiverem controladas, a chance de ocorrer falso-positivo ainda é uma realidade. O diagnóstico pré-natal pode ser realizado, quando há histórico familiar, através de extratos celulares do líquido amniótico ou da análise molecular<sup>14</sup>.

A atividade enzimática classifica a deficiência de Biotinidase em parcial, quando indica entre 10% e 30% do esperado e em profunda, quando apresenta desempenho inferior a 10% dos valores de referência, conforme os dados explicitados na tabela 2. Além disso, também pode-se mensurar a atividade média da Biotinidase, enquadrando-a dentro dos perfis para a doença, conforme a tabela 3<sup>3,15,16,17</sup>.

**Tabela 1** – Valores de referência para triagem neonatal: dosagem quantitativa de Biotinidase, no sangue seco em papel filtro<sup>3</sup>

<b>Classificação</b>	<b>Valor de Referência (nmol/min/dL) *</b>
<b>Normal</b>	> 60 nmol/min/dL
<b>Alterado</b>	≤ 60 nmol/min/dL

\*Leia-se nanomol por minuto por decilitro

**Tabela 2** – Valores de referência para dosagem da atividade enzimática quantitativa, confirmatória da DB<sup>3</sup>

<b>Classificação</b>	<b>Valor de Referência (nmol/min/mL) *</b>
<b>Normal</b>	5,2 – 9,3 (>30%)
<b>Heterozigose**</b>	2,1 - 5,1
<b>Deficiência Parcial</b>	0,8 - 2,1 (10%-30%)
<b>Deficiência Profunda</b>	< 0,8 (<10%)

\*Leia-se nanomol por minuto por mililitro;

\*\* Neste caso, a pessoa tem uma mutação para a doença, mas não a doença.

# valor médio= 7,25 <30%= 2,1 10%= 0,8

**Tabela 3** – Atividade média de Biotinidase para várias categorias de indivíduos. Adaptado e traduzido da referência<sup>16</sup>

<b>Categoria</b>	<b>Atividade média de Biotinidase ± SD (nmol/min/ml sérum) (n)</b>
<b>Indivíduos normais</b>	7.57 ± 1.41 (100)
<b>Heterozigotos</b>	3.49 ± 0.72 (21)
<b>Indivíduos afetados (sintomáticos)</b>	0.12 ± 0.18 (23)
<b>Indivíduos afetados (triagem neonatal)</b>	0.19 ± 0.16 (41)
<b>Indivíduos com DPaB</b>	1.47 ± 0.41 (23)

A deficiência da vitamina Biotina, se não tratada no período do segundo ao quinto mês de vida pode acarretar alterações como atraso no desenvolvimento, lesões de pele, atrofia de nervo ótico, ataxia, hipotonia, convulsões, problemas respiratórios, e perda auditiva. Para os casos de DPB ocorrem erupção cutânea eczematosa, alopecia, conjuntivite, candidíase e ataxia. De acordo com a literatura, há relatos de casos confirmados nos quais houve, logo nas primeiras semanas, o aparecimento desses sintomas<sup>18</sup>.

O tratamento da DB é realizado por suplementação com Biotina na forma livre, de forma vitalícia. Atualmente estima-se que crianças com DB identificadas pela triagem neonatal tem 93% de chance de permanecerem assintomáticas após administração da medicação<sup>18,19</sup>.

As avaliações audiológicas são muito importantes, pois a detecção e a intervenção precoce da perda auditiva em tempo oportuno, que ocorre dentro do período crítico de desenvolvimento da fala, linguagem e cognição, são essenciais para que o desempenho individual da criança seja minimamente afetado.

A perda auditiva (PA) nas crianças sintomáticas com DB, que é de origem autossômica recessiva, ocorre em aproximadamente 76% dos casos. Apesar da perda auditiva aparecer em decorrência do tratamento tardio, há alguns casos em que a PA neurossensorial é diagnosticada em recém-nascidos antes do tratamento com a Biotina<sup>20</sup>. Busca-se estudar se há um componente bioquímico ou genético que se relacionam aos tipos de perda e o desenvolvimento da audição.

#### **6.1.4- Métodos**

Trata-se de um estudo observacional transversal de amostra não probalística. Foram recrutadas crianças de até 24 meses de vida, com diagnóstico confirmado de DB, tanto na forma parcial quanto na profunda, triadas pelo PETN do Estado de Minas Gerais e atendidas no ambulatório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG. O principal objetivo desse estudo é avaliar a audição de recém-nascidos e

lactentes até os 24 meses de vida com diagnóstico de DB, triados pelo Programa de Triagem Neonatal (PTN) do Estado de Minas Gerais conduzido pelo Núcleo de Apoio ao Diagnóstico (NUPAD), aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, sob CAAE número 19595319.7.0000.5149.

A avaliação audiológica foi realizada em uma sala devidamente equipada num grande complexo hospitalar do Estado de Minas Gerais após a consulta pediátrica no Ambulatório de Seguimento de Deficiência de Biotinidase já programada a estes pacientes. Para o recrutamento das crianças, os pais ou responsáveis foram abordados pessoalmente, quando foram informados sobre o caráter voluntário da pesquisa e solicitados a permitir a participação de seu filho no estudo. Foi entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participação na pesquisa, antes do início dos exames, quando foram explicitados todos os procedimentos a serem realizados. Os pais ou responsáveis foram então solicitados a assinar o TCLE autorizando a participação voluntária de seu filho no estudo.

Como critérios de inclusão, considerou-se pacientes com diagnóstico e em tratamento da deficiência de Biotinidase, triados pelo PETN de Minas Gerais.

Foram excluídos do estudo pacientes cujos pais apresentaram dificuldade de compreensão do estudo, crianças com fator de risco para deficiência auditiva, crianças que falharam na triagem neonatal, maiores de 2 anos de idade ou pacientes que não colaboraram com a realização dos exames, impossibilitando a aquisição de resultados consistentes ou que apresentavam afecções de orelha externa e média vistas à meatoscopia.

O recrutamento de pacientes ocorreu de março a novembro de 2019 a novembro de 2021, num total de 42 crianças, de idades diversas, das quais apenas foram consideradas como participantes menores de 24 meses de vida, uma vez que a avaliação do comportamento auditivo abrange apenas esta faixa etária. Vale frisar que nem todos os participantes foram colaborativos com a realização de todos os exames propostos, de modo que apenas nove crianças realizaram EOAT e avaliação do comportamento auditivo, compreendendo este a amostra final do estudo.

As EOAT são sons de fraca intensidade produzidos pela cóclea, que manifestam como uma onda sonora complexa no meato acústico externo durante alguns milissegundos. A avaliação contempla uma ampla faixa de frequência, predominante de 1 KHz a 5 KHz, por meio de um estímulo acústico breve. A análise

por banda de frequência permite uma noção da funcionalidade das células ciliadas externas e a presença das EOAT se dá quando a reprodutibilidade e a relação sinal/ruído apresentam valores dentro do esperado<sup>21</sup>.

Para avaliação do comportamento auditivo foram utilizados os instrumentos acústicos da banda rítmica (conjunto de instrumentos sonoros que possibilitam detectar perdas auditivas neurossensoriais de grau moderado a profundo); audiômetro pediátrico (detecta os níveis mínimos de respostas); anamnese infantil (Anexos 3 e 4) e otoscópio.

Após o preenchimento da anamnese infantil foi realizada a inspeção visual do meato acústico externo, utilizando-se o otoscópio da marca da marca *Heine 2,5V K100* com o objetivo de visualizar o meato acústico externo e a membrana timpânica, excluindo-se a presença de cerúmen ou corpo estranho que possam impedir a realização adequada do exame.

Para as crianças de até 6 meses, a avaliação auditiva era realizada com quatro instrumentos acústicos da bandinha rítmica, sendo eles Guizo II, Sino, Agogô grande e Tambor, cujas características acústicas variavam nas frequências de 315 Hz a 5000 Hz e intensidade de 90 dBNPS. No momento do teste, a criança encontrava-se em estado de alerta e a apresentação do som era feita nas duas orelhas separadamente, a uma distância de 20 cm perpendicularmente ao pavilhão auricular, estando a criança no colo de um dos pais ou responsável e com apoio de cabeça. Os estímulos tinham duração de 5 a 10 segundos. Os tipos de respostas observadas eram registrados no protocolo de avaliação do comportamento auditivo. Neste grupo de crianças não foi realizada a investigação dos níveis mínimos de respostas com o uso do audiômetro pediátrico.

As crianças de 6 a 24 meses foram avaliadas dentro de uma sala acusticamente tratada. Cada criança foi colocada no colo de um dos pais ou responsável, com equipamento a uma distância de 50 cm de cada orelha. O primeiro examinador ficou atrás da criança operando o audiômetro pediátrico e o segundo examinador ficou de frente para o participante realizando a técnica de distração. A sala de teste era desprovida de estímulos visuais que poderiam se tornar competitivos. A intensidade mínima que ocorria a resposta em cada frequência era registrada no protocolo de avaliação do comportamento auditivo. Para esta pesquisa os seguintes parâmetros foram utilizados:

- o tipo de resposta considerada foi de localização sonora;
- o tempo de apresentação do estímulo de 5 segundos;
- o tempo de intervalo para a resposta de aproximadamente 5 segundos;
- o tipo de sinal selecionado foi o *warble* (tom puro modulado).

Como última etapa da avaliação foi realizado o teste de reconhecimento de comandos verbais, que era composta de ordens simples direcionadas à criança. Nesse momento, eram avaliadas apenas crianças com idade entre 9 e 24 meses. A classificação para essa prova compreendia três níveis:

- Nível I (9 a 12 meses): “dá tchau/ joga beijo/ bate palma”
- Nível II (12 a 15 meses): “cadê a chupeta?/ cadê a mamãe?/ cadê o sapato?”
- Nível III (15 a 24 meses): “cadê a mão?/ cadê o cabelo?/ cadê o pé?”

O critério “passou-falhou” baseou-se na presença ou ausência de respostas motoras previamente definidas das crianças frente aos estímulos sonoros.

Em relação ao desenvolvimento auditivo (Figura 1), a classificação da criança quanto ao seu desempenho, dentro, abaixo ou acima do esperado, era feita por meio da resposta apresentada, levando em conta sua faixa etária. Os critérios adotados para os tipos de respostas foram os propostos por Northern & Downs<sup>22</sup> como: atenção, procura da fonte, localização lateral, localização indireta para baixo, localização direta para baixo, localização indireta para cima e localização direta para cima.

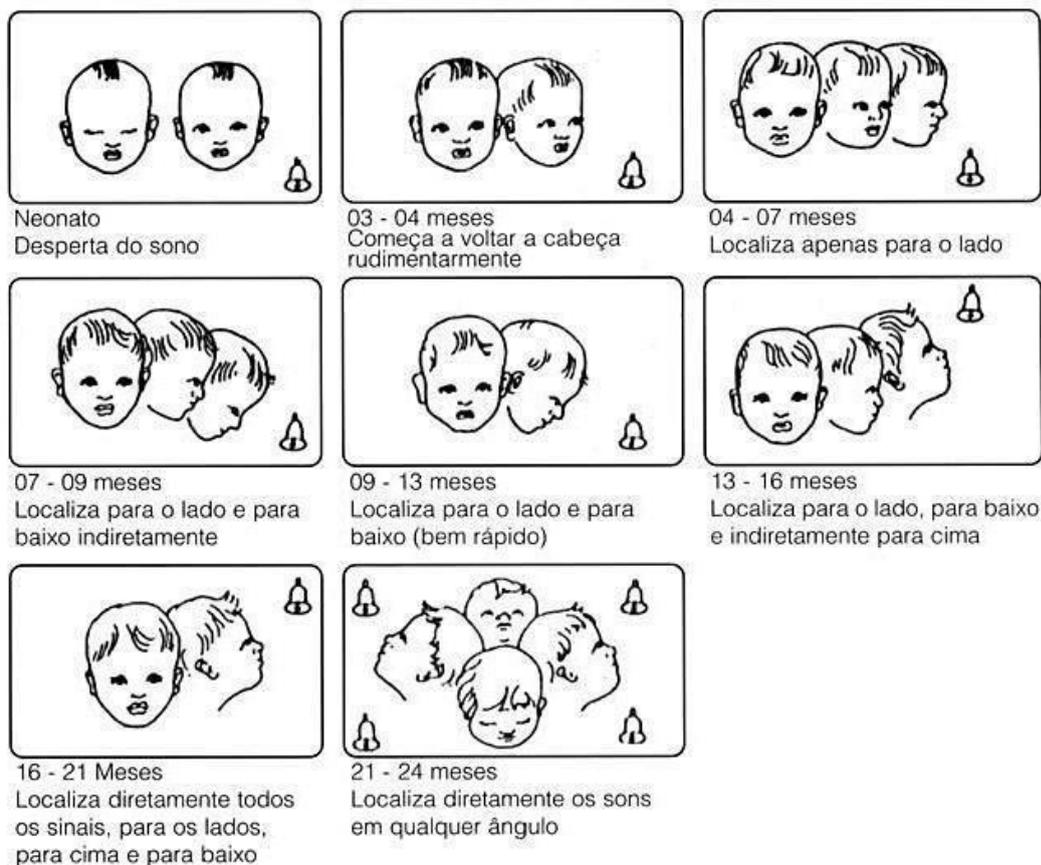


Figura 1 - Desenvolvimento normal do comportamento auditivo segundo *Northern&Downs* (1991)<sup>22</sup>

Na avaliação das crianças de 6 a 24 meses eram apresentados os mesmos quatro instrumentos acústicos do outro grupo de crianças, sendo eles Guizo II, Sino, Agogô grande e Tambor. A criança em estado alerta sentada sobre o colo de um dos pais ou responsável, de frente para um dos examinadores, que distraia a criança enquanto o outro examinador, atrás da criança, apresentava os estímulos sonoros num ângulo de 45 graus em relação à orelha da criança, seguindo a ordem:

- 50 cm abaixo da orelha direita,
- 50 cm abaixo da orelha esquerda,
- 50 cm acima da orelha esquerda,
- 50 cm acima da orelha direita.

Para a pesquisa do reflexo cócleo-palpebral (RCP) foi o utilizado o instrumento sonoro Prato, que apresenta como características acústicas frequência de 2500 Hz e intensidade de 90 dBNPS. A resposta para o estímulo era classificada como presente ou ausente. Durante a avaliação também foi observado se houve presença ou não do reflexo de *Startle*.

Todos os dados obtidos foram analisados, organizados em um banco de dados e posteriormente submetidos a análise estatística. O *software* escolhido para a análise descritiva foi o SPSS 25.0 para variáveis de amostra isolada, como média, mediana e comparação de variáveis de interesse, considerando o índice de confiança de 95%.

### 6.1.5 - Resultados

A amostra contou com 6 meninas e 3 meninos, com idade compreendida entre 3 e 24 meses (média de idade 11,6 meses). A média de idade ao diagnóstico e início do tratamento foi de 34,5 e a mediana foi 23 dias, variando de 9 dias a 2 meses de vida. Entre os nove participantes, apenas um deles apresentava DB na forma profunda, os demais, na forma parcial. A análise dos dados da amostra evidencia que os participantes foram submetidos ao tratamento com reposição de Biotina de acordo com os dados da tabela 4, uma vez que o tratamento é instituído assim que firmado o diagnóstico. Por não se tratar de uma doença que se relaciona ao cromossomo X, o acometimento de indivíduos do sexo masculino e feminino se dá de forma aleatória.

**Tabela 4** – Média de idade do diagnóstico e da realização das avaliações auditivas propostas, de acordo com o sexo

Sexo	N	Idade ao Diagnóstico (em dias)		Idade no Exame (em meses)	
		Média	Mediana	Média	Mediana
Masculino	3	32	24	16,3	12
Feminino	6	34	21	6	8

**Legenda:** N: número de participantes

Tendo como amostra final nove pacientes, das 18 orelhas submetidas à avaliação, 100% delas apresentavam EOAT presentes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as bandas de frequência observadas nos participantes entre orelhas direita e esquerda. Em todos os pacientes, a conclusão do exame de EOAT foi normal.

**Tabela 5** – Comparação das bandas de frequência entre orelhas direita e esquerda dos participantes.

Orelha	N	1000Hz	1410Hz	2000Hz	2830Hz	4000Hz
Direita	9	11,76	13,21	14,59	15,48	14,2
Esquerda	9	16,01	16,61	13,97	16,39	11,38
<i>p-valor</i>		0,929	0,220	0,260	0,164	0,233

**Legenda:** N: número de participantes; *p-valor*: Valor de p encontrado (Teste exato de Fisher).

### 6.1.6 - Discussão

No presente estudo, todas as crianças submetidas à avaliação do comportamento auditivo já se encontravam em tratamento e faziam uso diário da dose recomendada de Biotina. A amostra teve média de idade de início de tratamento de 34,5 dias e mediana de 23 dias uma vez que ao realizar o diagnóstico, o tratamento já se inicia de imediato, conforme evidenciado na tabela 4. Não foram, contudo, evidenciadas alterações no comportamento auditivo e as EOAT foram tidas como presentes em todos os pacientes com deficiência de Biotinidase estudados.

Os sintomas da deficiência profunda de Biotinidase, se não tratados, podem manifestar-se em alterações graves e irreversíveis, tais como neurológicas, perda auditiva e comprometimento da visão. A DB e sua relação com a perda auditiva foi relatada primeiramente por Wolf et al. (1983)<sup>23</sup> nos Estados Unidos da América (EUA) como um achado incomum em três crianças em tratamento com Biotina. O autor relata que a principal hipótese é o acúmulo de peptídeos de Biotina (s-N- biotinyL-L-lisina) e demais erros inatos do metabolismo, uma vez que o tratamento por meio da suplementação não mostrou interferir no desaparecimento do sintoma<sup>23</sup>. Este achado corrobora com o estudo de caso proposto por Taitz et al. (1985)<sup>24</sup> no Reino Unido, no qual foi observado que a baixa de Biotina associada a DB leva a alterações visuais e auditivas, e os sintomas apareceram em média em torno do primeiro ano de vida<sup>23</sup>.

A ocorrência da perda auditiva relacionada à DPB foi observada no estudo de Wolf et al. (2002)<sup>20</sup> com 33 crianças de 29 famílias, identificadas pela triagem neonatal, nos EUA. Do total de crianças, nenhuma apresentou sintomas auditivos, mas por meio da avaliação audiológica do potencial evocado de tronco encefálico e audiometria, 25 crianças apresentaram PA neurosensorial de grau leve a severo, tendo aproximadamente, 75% das crianças diagnosticadas com DPB e algum grau de perda auditiva. Observou-se que a média de idade do início dos sintomas nas crianças com PA foi de 9,6 meses e o tratamento foi iniciado em 27,9 meses. Houve elevada incidência dos problemas de aprendizado e linguagem nas crianças com perda auditiva, cerca de 78 e 70%, e nas crianças sem perda auditiva, cerca de 62 e 50%. As configurações audiométricas na maioria das crianças com DPB, após tratamento, não foram progressivas<sup>20</sup>.

No presente estudo, todas as crianças submetidas à avaliação do comportamento auditivo já se encontravam em tratamento e faziam uso diário da

Biotina. A fim de determinar a participação enzimática e a concentração de Biotina no cérebro e nas vias auditivas, um estudo realizado por Heller et al. (2002)<sup>25</sup> com camundongos relatou o ciclo químico da enzima. A Biotina é uma vitamina hidrossolúvel que é covalentemente ligada a quatro carboxilases que são essenciais para a síntese de ácidos graxos, catabolismo de aminoácidos e glicogênese. As holocarboxilases (aminoácidos) são degradadas e a Biotina é liberada em forma de biocitina (biotil-O-lisina) ou em forma de peptídeos<sup>25</sup>. No referido estudo, foram realizadas secções de tecido cerebral do tálamo, mesencéfalo, córtex frontal, córtex posterior, hipocampo, corte enterorrinal, bulbo olfatório, ponte, medula e medula espinhal dos camundongos, onde foram extraídos o RNA do exon 4<sup>2</sup>, que expressam a Biotinidase em humanos e nos camundongos. Utilizando a técnica de coloração imuno-histoquímica leve, a Biotinidase foi localizada em todas as regiões previamente seccionadas e testadas, porém, em baixa concentração. Além dessas estruturas, houve coloração de neurônios sensoriais do gânglio espiral, no citoplasma dos dendritos de neurônios dos núcleos cocleares dorsal e ventral bem como do complexo olivar superior, indicando maior concentração e atividade enzimática na cóclea (CCI) e nas principais vias auditivas<sup>25</sup>. Em relação ao tratamento, o estudo revela que a Biotina pode retardar a lesão nas vias auditivas ou estabilizar as alterações, o que foi citado nos demais estudos usados de base teórica nesse trabalho<sup>17,26, 27, 28</sup>.

Na amostra observada no presente estudo, não foram evidenciadas alterações nas EOAT dos participantes, também não foram encontradas diferenças estatísticas das amplitudes de resposta por banda de frequência em relação às orelhas. Não foram encontrados estudos na literatura para corroborar esses achados.

Segundo Northern&Downs<sup>20</sup>, na avaliação do comportamento auditivo, realizada com os instrumentos acústicos, notou-se que todas as crianças estudadas não apresentaram quaisquer alterações, em relação às respostas de localização auditiva quando comparadas com os parâmetros delineados. Todavia, na amostra do presente estudo, observou-se que com crianças de idade superior a um ano necessitaram de maior tempo de condicionamento, apresentando agitação e tempo de atenção reduzido. Nessas crianças foi necessário maior número de interrupções no exame, porém essas variações não interferiram nas respostas obtidas, que se encontraram dentro do padrão de normalidade.

Um grande entrave e ao mesmo tempo potencializador deste estudo é a escassez de estudos semelhantes na literatura, dando a ele certo grau de pioneirismo no tema.

O diagnóstico precoce e a instauração do tratamento o quanto antes são a forma mais efetiva de se prevenir a perda auditiva em crianças com DB. Isso evidencia a importância dos programas de triagem neonatal. O diagnóstico tardio da DB acomete as vias auditivas de tal forma que a perda auditiva se apresenta irreversível, conforme relato de caso de Welling et al<sup>28</sup> que acompanhou a audição de uma criança com DB durante dez anos por meio de audiometria. A criança aos 16 meses, quando foi diagnosticada, apresentava perda auditiva discreta sendo iniciada a suplementação. Durante o seguimento por nove anos, a criança evoluiu para perda de grau moderado e apresentou grau profundo, bilateralmente, em altas frequências aos 10 anos de idade. Em relato de caso similar, Tsao et al.<sup>29</sup> relataram o caso de uma criança com DPB, no qual os pais possuíam atividade enzimática de indivíduos heterozigotos. A criança apresentou episódio de ataxia aos 17 meses e aos 19 meses houve piora da marcha, malformação de Chiari I e diagnóstico de PA neurosensorial moderada bilateral. Após 8 meses de tratamento com 5mg diários de Biotina, pode-se observar remissão dos sintomas inclusive da perda auditiva, pois a criança apresentou limiares auditivos normais<sup>29</sup>. Todos os sintomas foram cessados após suplementação da Biotina. Em específico, o estudo além de relatar as alterações, salienta a necessidade de estudos amplos populacionais para novas mutações uma vez que com a situação territorial e econômica, cada vez mais há aumento de imigrantes, favorecendo essa miscelânea gênica.

O teste do pezinho, que é um dos quatro exames realizados na triagem neonatal, é o responsável por diagnosticar a deficiência da Biotinidase. O teste está disponível no Brasil, distribuído na rede de Atenção Básica, Hospitais e Maternidades. O recomendado é que o teste seja feito entre o 3º e o 5º dia de vida do recém-nascido<sup>27</sup>. A triagem neonatal é essencial para diagnóstico precoce de DB, bem como para suplementação adequada, a fim de minimizar ou erradicar os sintomas. Apesar de se apresentar como uma desordem metabólica rara, a incidência da doença é bastante significativa e as alterações provocadas são muito graves se não tratadas, como alterações neurológicas, perda auditiva e comprometimento da visão<sup>3,27</sup>.

Os dados obtidos no presente estudo indicam que crianças com a DB que contemplaram a amostra e foram suplementadas com Biotina, não apresentaram PA.

Estudos adicionais de crianças com a DB são necessários para confirmar essas relações.

O estudo apresenta limitações, principalmente ligadas ao número pequeno da amostra, contudo os achados poderão subsidiar novos estudos que contemplem esta temática. Destaca-se a importância da avaliação audiológica na infância feita pela Fonoaudiologia, não apenas nesse grupo específico, mas em todas as crianças, visando melhorar a qualidade de vida, e realizando a intervenção precoce quando necessário, proporcionando um desenvolvimento seguro e saudável.

#### **6.1.7- Conclusão**

Crianças até os 24 meses de vida diagnosticadas com Deficiência de Biotinidase e em tratamento, independente desta ser na forma parcial ou profunda, apresentam avaliação auditiva comportamental adequada para a idade e presença de Emissões Otoacústicas Transientes. Estudos prospectivos de seguimento longitudinal desses pacientes e outros exames audiológicos são necessários para avaliar possíveis comprometimentos na via auditiva periférica e central e como se comporta a PA nestes pacientes, se de modo progressivo ou não.

### 6.1.8 - Referências

1. Wolff B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *J Inher Metab Dis*. 2001; 39:35-62.
2. Wolf B. Biotinidase deficiency: if you have to have an inherited metabolic disease, this is the one to have, *Genet Med*. 2012; 14: 565–575.
3. Arantes RR, Rodrigues VM, Norton RC, Starling ALP. Deficiência de Biotinidase: da triagem neonatal à confirmação diagnóstica e ao tratamento. *Revista Médica de Minas Gerais* 2016; 48-51.
4. Lara MT, Gurgel-Giannetti J, Aguiara MJ, et al. High incidence of Biotinidase deficiency from a pilot newborn screening study in Minas Gerais, Brazil. *JIMD Rep* 2015;24:103–107
5. Lara MT. Triagem neonatal para deficiência de Biotinidase no estado de Minas Gerais [Dissertação]. Belo Horizonte: Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2010. 102 p.
6. Gannavarapu S, Prasad C, DiRaimo J, Napier M, Goobie S, Potter M, et al. Biotinidase deficiency: Spectrum of molecular, enzymatic and clinical information from newborn screening Ontario, Canada. *Mol Genet Metab*. 2015; 116(3):146-51.
7. Al-Jasmi FA, Al-Shamsi A, Hertecant JL, Al-Hamad SM, Souid AK. Inborn Errors of Metabolism in the United Arab Emirates: Disorders Detected by Newborn Screening. *JIMD reports*. 2015;11:22.
8. Sivri HS, Genc GA, Tokatli A, et al. Hearing loss in Biotinidase deficiency: genotype-phenotype correlation. *J Pediatr* 2007;150:439–442.
9. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria Nº 2.829 de 14 de Dezembro de 2012. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). *Diário Oficial da União* 2 dez 2012; Seção 1.
10. Grier RE, Heard GS, Watkins P, Wolf B. Low Biotinidase activities in the sera of patients with impaired liver function: evidence that the liver is the source of serum Biotinidase. *Clin Chim Acta*. 1990;186:397–400.
11. Pabuccuoğlu A, Aydoğdu S, Bas M. Serum Biotinidase activity in children with chronic liver disease and its clinical significance. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34:59–62.
12. 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.
13. 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 MedGenet A.* 2019 Jun;179(6):978-982.
  14. Möslinger D, Mühl A, Suormala T, Baumgartner R, Stöckler-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound Biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003;162(suppl 1):46–49.
  15. Wiltink RC, Kruijshaar ME, van Minkelen R, Onkenhout W, Verheijen FW, Kemper EA, et al. Neonatal screening for profound Biotinidase deficiency in the Netherlands: consequences and considerations. *EJHG.* 2016; 24(10):1424-9.
  16. Strovel ET, Cowan TM, Scott AI, Wolf B. Laboratory diagnosis of Biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2017 Oct;19(10). doi: 10.1038/gim.2017.84. Epub 2017 Jul 5. Erratum in: *Genet Med.* 2017 Dec 14; PMID:28682309.
  17. Heard GS, SecorMcVoy JR, Wolf B. A screening method for Biotinidase deficiency in newborns. *ClinChem* 1984;30:125–127.
  18. Sarafoglou K, Bentler K, Gaviglio A, Redlinger-Grosse K, Anderson C, McCann M, Bloom B, Babovic-Vuksanovic D, Gavrilov D, Berry SA. High incidence of profound Biotinidase deficiency detected in newborn screening blood spots in the Somalian population in Minnesota. *J Inherit Metab Dis.* 2009;(Suppl 1):69-73.
  19. Szymańska E, Średzińska M, Ługowska A, Pajdowska M, Rokicki D, Tyłki-Szymańska A. Outcomes of oral biotin treatment in patients with Biotinidase deficiency — Twenty years follow-up. *Mol. Gen. Met Reports* 2015.
  20. Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound Biotinidase deficiency. *J Pediatr.* 2002; 140(2):242-6.
  21. U.S. Preventive Services Task Force. Universal screening for hearing loss in newborns: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Pediatrics* 2008;122:143–148
  22. Northern JI & Downs MP. Behavioral hearing testing of children. In: .Hearing in children. 4 a .ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1991.
  23. Wolf B., Grier R.E., Heard G.S. Hearing loss in Biotinidase deficiency. *The*

Lancet1983 ;10:1366-67.

24. Taitz LS, Leonard JV , Bartlett K. Long-term auditory and visual complications of Biotinidase deficiency. *Early Human Development* 1985; 11:325-331.
25. Heller AJ , Stanley C , Shaia WT , Sismanis A , Spencer RF , Wolf B . Localization of Biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in Biotinidase deficiency. *Hear Res.* 2002;173(1-2):62-8.
26. Wolf B, Grier RE, Allen RJ, Goodman SI, Kien CL. Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency. *ClinChimActa*1983;131:273–281.
27. Borsatto T, Sperb-Ludwig F, Lima SE, S.Carvalho MR, S. Fonseca PA, S. CameloJ, Jr, et al. Biotinidase deficiency: Genotype-biochemical phenotype association in Brazilian patients. *PLoS ONE* 2017;12(5): e0177503.
28. Welling DB. Long-term follow-up of hearing loss in Biotinidase deficiency. *J Child Neurol.* 2007; 22(8):1055-7.
29. Tsao CY, Kien CL. Complete Biotinidase Deficiency presenting as reversible progressive ataxia and sensorineural deafness. *Journal of Child Neurology*,2002;17:2.

## **6.2- Artigo 2: Avaliação Audiológica em Pacientes com Deficiência de Biotinidase Parcial e Profunda, em Tratamento**

### **Audiological Assessment in Patients with Biotinidase Deficiency, either in the Partial or Deep form, in Treatment**

#### **6.2.1- Resumo**

**Introdução:** A deficiência da Biotinidase (DB) é uma doença de herança autossômica recessiva que ocorre pela falha na reciclagem da vitamina do complexo B (Biotina, vitamina B7 ou Vitamina H). O tratamento da DB é realizado por suplementação com Biotina na forma livre, de forma vitalícia. Atualmente estima-se que crianças com DB identificadas pela triagem neonatal tem 93% de chance de permanecerem assintomáticas após administração da medicação. A deficiência da vitamina Biotina, se não tratada no período do segundo ao quinto mês de vida pode acarretar várias alterações, dentre elas, perda auditiva. O principal objetivo deste estudo é avaliar a audição de crianças com diagnóstico de DB. **Métodos:** Estudo observacional transversal de amostra não probabilística composta por crianças triadas pelo Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais. Foram realizados os seguintes exames: Avaliação do comportamento Auditivo, Avaliação pelo Audiômetro Pediátrico, Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT) e Audiometria Tonal Limiar, conforme a idade dos participantes. **Resultados:** A amostra final contou com 39 participantes, dos quais três apresentavam a doença na forma profunda, sendo 19 do sexo masculino e 20 do sexo feminino, com mediana de idade de 82 meses. A mediana de idade ao diagnóstico e início do uso da Biotina foi de 29 dias. Em todos os exames propostos, todos os participantes tiveram resposta adequada e Emissões Otoacústicas Transientes presentes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as bandas de frequência observadas entre os participantes entre orelhas direita e esquerda entre quaisquer grupos pareados. **Discussão:** A incidência da DB é significativa e as alterações provocadas são muito severas se não tratadas. **Conclusão:** Crianças com DB profunda ou parcial, em tratamento com Biotina, não apresentaram alterações auditivas.

**Descritores:** Perda auditiva, Triagem neonatal, Deficiência de Biotinidase, Transtornos da audição

### 6.2.2- Abstract

**Introduction:** Biotinidase (DB) deficiency is an autosomal recessive disease that occurs due to the failure to recycle the B complex vitamin (biotin, vitamin B7 or Vitamin H). The treatment of BD is carried out by supplementation with free biotin, for life. It is currently estimated that children with BD identified by neonatal screening have a 93% chance of remaining asymptomatic after medication administration. Biotin vitamin deficiency, if not treated in the second to fifth month of life, can cause several changes, including hearing loss. The main objective of this study is to assess the hearing of children diagnosed with BD. **Methods:** Cross-sectional observational study of a non-probabilistic sample composed of children screened by the Neonatal Screening Program of the state of Minas Gerais. The following tests were performed: Auditory Behavior Assessment, Pediatric Audiometer Assessment and Transient Otoacoustic Emissions (TOAE) and Threshold Tonal Audiometry, according to the age of the participants. **Results:** The final sample had 38 participants, 2 with the disease in the deep form, 17 males and 21 females, with a median age of 82 months. The median age at diagnosis and onset of biotin use was 29 days. In all the tests proposed, all participants had an adequate response and Transient Otoacoustic Emissions were present. There was no statistically significant difference between the frequency bands observed between participants between right and left ears between any paired groups. **Discussion:** The incidence of BD is significant and the consequences may be very severe if not treated. **Conclusion:** In this study, children diagnosed with BD, profound or partial, undergoing treatment with biotin, did not present hearing changes.

**Key words:** Hearing loss, Neonatal screening, Biotinidase deficiency, Hearing disorders.

### 6.2.3. Introdução

A deficiência da Biotinidase (DB) é uma doença de herança autossômica recessiva que ocorre pela falha na reciclagem da vitamina do complexo B (Biotina, vitamina B7 ou Vitamina H). A Biotinidase (*biotin-amido-hidrolase*) (EC3.5.1.12) é a enzima que recicla a Biotina, que pode ser obtida por meio dos alimentos, pela reciclagem após seu uso pelo organismo ou através da produção da microbiota intestinal<sup>1</sup>.

A incidência mundial da DB ocorre em 1 a cada 61.000 nos casos de profunda e parcial combinadas, 1 a cada 137.000 para DB profunda e 1 a cada 110.000 para deficiência parcial de Biotinidase<sup>2</sup>. Nacionalmente há dois estudos recentes que classificam a incidência da doença. Em estudo piloto realizado pelo laboratório do Núcleo de Ações e Pesquisas em Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Universidade Federal de Minas Gerais, nos anos de 2007 e 2008 revelou que as duas formas da doença combinadas ocorrem em 1 a cada 22 mil recém-nascidos vivos<sup>3</sup>. Em 2010, foram triados 182.942 recém-nascidos vivos através do Programa Estadual de Triagem Neonatal (PETN) e a prevalência de doença parcial da Biotinidase foi de 1:18.289 nascidos vivos, sem caso de deficiência profunda da Biotinidase<sup>4,5</sup>.

A Biotina é adquirida através da dieta livre e pode ser usada pelos quatro tipos de carboxilases que a utilizam para converter sua forma inativa para ativa no organismo<sup>6</sup>, e a DB pode se apresentar de duas formas: como deficiência profunda de Biotinidase (DPB), no qual dentro dos parâmetros genéticos de normalidade a atividade enzimática é inferior a 10%, ou se apresentar como deficiência parcial de Biotinidase (DPaB), no qual a atividade enzimática encontra-se entre 10 e 30%<sup>1,2</sup>. As alterações genéticas ocorrem predominantemente, de maneira heterozigota, através do braço curto do cromossomo 3 (3q25) mapeado no gene BTBD9:609019. Geneticamente, a incidência da doença tem variabilidade de acordo com fatores principalmente culturais da população estudada, uma vez que a consanguinidade ocorre em 20% dos casos<sup>3</sup>. O gene humano que codifica a Biotinidase consiste no exon 4, nos tamanhos 79pb, 265 pb, 150 pb e 1,502 pb<sup>2</sup>.

Atualmente, mais de 150 tipos de mutações foram relatados na literatura em crianças com DPB<sup>4,5</sup>. As mutações podem ser mexesse (c.1612C>T, p.Arg538Cys), que ocorre nas regiões conservadas da enzima e ou da estrutura terciária da enzima e é a segunda causa mais comum de DPB; ou nonsense, deleção, inserção, duplo-

alélico e mutações de junção. Sabe-se que as combinações de mutações diferentes representam em 60% os fatores causadores da DPaB e DB<sup>5,6,7</sup>. Algumas mutações quando combinadas podem manifestar a DB, como é o caso da mutação p.Asp444His, que é identificada em 98% dos indivíduos heterozigotos com DPaB. Os indivíduos que são homozigotos para esta mutação possuem 50% da dosagem sérica normal para a deficiência<sup>8,9</sup>. A deficiência da Biotinidase não é resultante de um espectro contínuo da atividade residual, mas sim de uma distribuição bifásica da atividade.

Em Minas Gerais, um estudo proposto em 2019 denota que a incidência combinada de DB foi estimada em 1: 13.909 nascidos vivos (95% limite de confiança 1:11.235–1:17.217), muito mais alto do que as taxas de incidência relatadas em outras populações em todo o mundo, tendo o gene com variantes mais observado o p.D444H. O sequenciamento do gene da Biotinidase é uma ferramenta útil para confirmar o diagnóstico e fornece informações valiosas sobre variabilidade genética entre diferentes populações<sup>10</sup>, sendo esta uma ferramenta importante para obter uma melhor compreensão da correlação entre fenótipo bioquímico e genótipo<sup>11</sup>.

Hoje em dia, o diagnóstico da DB integra os programas nacionais de triagem neonatal de países como EUA, Canadá, Holanda e Emirados Árabes<sup>12,13,14</sup>. No Brasil, desde 2012 a DB é parte integrante do Programa Nacional de Triagem Neonatal, e é classificada em profunda e parcial de acordo com suas atividades heterozigóticas<sup>15,16</sup>. O diagnóstico acontece através do método de colorimetria quantitativa, que mensura a atividade da Biotinidase, através da amostra do sangue seco do recém-nascido em papel filtro saturado (Tabela 1).

**Tabela 1** – Valores de referência para triagem neonatal: dosagem quantitativa de Biotinidase, no sangue seco em papel filtro<sup>3</sup>

Classificação	Valor de Referência (nmol/min/dL) *
Normal	> 60 nmol/min/dL
Alterado	≤ 60 nmol/min/dL

\*Leia-se nanomol por minuto por decilitro

Os substratos utilizados podem ser biotinil-p-aminobenzoato ou o biotinil-6-aminoquinolina. O exame falso-positivo pode ocorrer se a criança possuir uma concentração de albumina acima do normal estiver sendo medicada com o uso de ácido valpróico ou antibióticos. Resultados falso-negativos ocorrem se houver uma concentração elevada de triglicerídeos decorrentes ao uso de lipídios intravenosos ou concentrado de imunoglobulina. A diminuição enzimática da atividade pode sofrer interferência da prematuridade ou disfunção hepática, embora, se todas as variáveis

de análise estiverem controladas, a chance de ocorrer falso-positivo é uma realidade. O diagnóstico pré-natal pode ser realizado, quando há histórico familiar, através de extratos celulares do líquido amniótico ou da análise molecular. A atividade enzimática classifica em deficiência parcial, quando indica entre 10% e 30% do esperado e em deficiência profunda, quando apresenta desempenho inferior a 10% dos valores de referência<sup>3,17,18</sup>.

Atualmente há uma proposta realizada pela *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) que dispõe diretrizes básicas a serem seguidas, de forma voluntária, pelos geneticistas e laboratórios a fim de atribuir qualidade na quantificação dos dados diagnósticos da DB. Dessa forma, são propostos nove passos, que devem ser seguidos durante o período de diagnóstico<sup>19</sup> (Tabela 2).

**Tabela 2 – Guidelines segundo recomendação da American College of Medical Genetic and Genomics<sup>19</sup>.**

<b>Proposta de Avaliação da DB segundo ACMG</b>	
<b>Sequência</b>	<b>Descrição</b>
<b>Calibração e Quantificação</b>	Avaliação do controle de qualidade por meio do substrato de Biotina e ácido Biotina amidoenzóico a fim de diminuir os resultados falsos-positivos <sup>20,21,22</sup> .
<b>Intervalos de Referência</b>	Atribuir valores individuais e intervalos de referência de indivíduos, atualizados a cada amostra de recém-nascido, com a atividade normal, intermediária, parcial ou profunda da Biotinidase <sup>23</sup> . (Tabela 4)
<b>Treinamento dos técnicos</b>	Propõe treinamento técnico dos trabalhadores e a necessidade deste laboratório ter uma equipe associada a pesquisas clínicas.
<b>Preparação simples</b>	Dispõe que para os testes enzimáticos as amostras de soro ou plasma devem ser descongeladas imediatamente antes da análise, sendo esta a única etapa do teste.
<b>Análise dos métodos</b>	Sugere que todos os indivíduos afetados tenham sequenciamento de DNA como parte do teste confirmatório, uma vez que há variações na correlação entre as atividades enzimáticas do recém-nascido e dos pais <sup>24</sup> .
<b>Controle de qualidade</b>	Propõe o controle das amostras coletadas, que devem ser preparados a 60°C durante uma hora. O armazenamento deverá ser feito em alíquotas a -80°C. Dispõe ainda sobre as avaliações diagnósticas, onde deverão ser testadas a reação a substância que podem causar resultados falso negativo <sup>25</sup> .
<b>Proeficiência do teste</b>	Refere sobre o melhor tipo de diagnóstico, que deverá ser feito através da Triagem Neonatal bem como realizar

	novamente a análise das amostras periodicamente <sup>26</sup> .
<b>Interpretação</b>	<p>Dispõe que para a interpretação do teste os valores devem estar:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Entre 10% e 30% da atividade normal média é indicativo de deficiência parcial.</li> <li>2- Abaixo de 10% da atividade normal média é indicativo de deficiência profunda.</li> <li>3- A atividade enzimática do recém-nascido aumenta ao longo dos primeiros dias até as primeiras semanas de vida. Portanto crianças com 50 a 70% da média de atividade normal não requer novo teste em data posterior.</li> <li>4- Para melhor controle destas variáveis, é sugerido que seja determinado as atividades enzimáticas em amostras de controle normal e em ambos os pais<sup>18,27</sup>.</li> </ol>
<b>Relatar o caso</b>	Os casos identificados deverão ser relatados pelos laboratórios de Genética (de acordo com as normas da CLIA e padrões da ACMG) contendo dados da atividade enzimática da Biotinidase, unidades de medida, intervalo de referência e a interpretação. Deverá ser realizado também instruções de acompanhamento, incluindo encaminhamentos necessários.

A deficiência da Biotina, se não tratada no período do segundo ao quinto mês de vida pode acarretar alterações como atraso no desenvolvimento, alopecia, lesões de pele, atrofia de nervo ótico, ataxia, hipotonia, convulsões, problemas respiratórios, como hiperventilação, estridor laríngeo, apneia e perda auditiva. Para os casos de DPB ocorrem erupção cutânea eczematosa, alopecia, conjuntivite, candidíase e ataxia. De acordo com a literatura, há relatos de casos confirmados no qual houve, nas primeiras semanas de vida, alguns desses sintomas<sup>28</sup>.

O tratamento da DB é realizado por suplementação com Biotina na forma livre, de forma vitalícia. Atualmente estima-se que crianças com DB identificadas pela triagem neonatal tem 93% de chance de permanecerem assintomáticas após administração da medicação<sup>2,29,30,31</sup>.

O tratamento é eficiente, mas controverso em alguns estudos da literatura quando se diferencia DPB e DPaB<sup>5,18,20,26,32</sup>. Alguns estudos mostram que o resultado das medições séricas de Biotinidase em crianças com DB profunda ou parcial indicam que o tratamento com Biotina é satisfatório na prevenção de alguns sintomas.

Entretanto, foi observado que crianças com DPB que possuem menos de 1% de atividade enzimática devem ser tratadas com Biotina, mas as crianças que possuem >1% a 10% de atividade enzimática podem não precisar de tratamento. Porém, uma criança com 1% –10% de atividade da Biotinidase tem a mesma probabilidade de desenvolver os sintomas. Por outro lado, outros estudos recomendam que todas as crianças com DB, independentemente da atividade enzimática, devem ser tratadas com Biotina<sup>33</sup>.

A detecção e a intervenção precoce da perda auditiva, que ocorre dentro do período crítico de desenvolvimento da fala, linguagem e cognição, são essenciais para que o desempenho individual da criança seja minimamente afetado, independente do tipo da perda auditiva (Tabelas 3, 4 e 5).

**Tabela 3 – Desenvolvimento Auditivo Normal na Infância<sup>34</sup>.**

Idade (Meses)	Desenvolvimento Normal
<b>0-4</b>	Deve reagir a sons altos, acalma-se à voz da mãe, interromper atividades momentaneamente durante a apresentação de som em níveis de conversação.
<b>5-6</b>	Deve localizar corretamente o som apresentado em um plano horizontal, iniciar a imitar sons em repertório próprio da fala ou pelo menos vocalizar reciprocamente com um adulto.
<b>7-12</b>	Deve localizar corretamente o som apresentado em qualquer plano, deve responder ao nome, mesmo quando falado baixo.
<b>13-15</b>	Deve apontar em direção a um som inesperado ou objetos familiares ou pessoas quando solicitado
<b>16-18</b>	Deve seguir instruções simples, sem gestos ou indicações visuais; pode ser treinado para alcançar um brinquedo interessante, quando um som é apresentado.
<b>19-24</b>	Deve apontar para partes do corpo quando solicitado; com cerca de 21 meses podem ser treinados para realizar audiometria condicionada.

**Tabela 4 – Recomendações para Crianças com Desenvolvimento Anormal da Fala<sup>34</sup>.**

<b>Idade (Meses)</b>	<b>Crítérios para Investigação de Crianças com Atraso de Fala</b>
<b>12</b>	Não balbucia ou imita voz
<b>18</b>	Não fala palavras isoladas
<b>24</b>	Vocabulário de palavras únicas $\leq 10$ palavras
<b>30</b>	Menos que 100 palavras; sem evidência de combinação de 2 palavras; ininteligível
<b>36</b>	Menos que 200 palavras; não utiliza frases telegráficas; clareza $<50\%$
<b>48</b>	Menos que 600 palavras; não utiliza frases simples; clareza $\leq 80\%$

No mundo, a maioria das crianças é identificada com perda auditiva congênita a partir da triagem auditiva neonatal (TAN), porém a perda auditiva (PA) em crianças pode ocorrer de forma adquirida, progressiva ou de início tardio<sup>35,36</sup>. Portanto, se ao nascimento há detecção de indicadores de risco para tal alteração é necessário que seja realizada avaliação audiológica preferencialmente nos primeiros dias de vida, na maternidade, ou até o primeiro mês de vida dos recém-nascidos, ou até o terceiro mês de vida dos lactentes, em idade corrigida. Deve-se levar em consideração os recém-nascidos prematuros e os que permaneceram por longos períodos no hospital. Antes da implementação da DB na triagem neonatal, a DPaB era desconhecida. Em estudo realizado nos Estados Unidos da América (EUA) todas as 16 crianças triadas apresentaram DPaB. Destas crianças, com exceção de uma que desenvolveu sintomatologia, todas permaneceram assintomáticas ou estas alterações se apresentaram de forma discreta e inespecífica. O diagnóstico de DPaB, nessas crianças, provavelmente não teria sido feito se não fosse pela triagem neonatal<sup>35,36</sup>.

**Tabela 5** – Marcos de Desenvolvimento para Comunicação e Linguagem<sup>37</sup>.

<b>Etapa</b>	<b>Média da idade de Aquisição (Meses)</b>	<b>Implicações Evolutivas</b>
<b>Sorri em resposta a rostos e vozes</b>	1,5	Criança socialmente mais participante
<b>Balbucia monossílabos</b>	6	Experimenta sons e sensações táteis
<b>Inibe-se com “não”</b>	7	Responde a sons
<b>Segue uma ordem com gestos</b>	7	Comunicação não verbal
<b>Segue uma ordem sem gesticular</b>	10	Receptiva à linguagem oral

<b>Fala a primeira palavra com significado</b>	12	Início da fala
<b>Fala 4–6 palavras</b>	15	Aquisição de nomes pessoais e de objetos
<b>Fala 10–15 palavras</b>	18	Aquisição de nomes pessoais e de objetos
<b>Fala frases de 2 palavras</b>	19	Início da gramatização corresponde a um vocabulário com mais de 50 palavras

Após avaliação auditiva por meio da TAN, todas as crianças deverão ser encaminhadas, mesmo aquelas que possuem resultados satisfatórios na triagem, porém possuem indicadores de risco para PA, a fim de realizar monitoramento auditivo por meio da avaliação audiológica, no período entre 7 e 12 meses na atenção especializada. No caso da perda auditiva do tipo condutiva ou mista, a criança permanece em acompanhamento otorrinolaringológico e audiológico. Se a perda for neurosensorial, a criança será acompanhada para realização do diagnóstico, conduta e reabilitação<sup>35,36,38</sup>.

A PA nas crianças sintomáticas com DPB, que é de origem autossômica recessiva, ocorre em aproximadamente 76% dos casos. Apesar da PA apresentar-se como um sintoma em decorrência do tratamento tardio, há alguns casos em que a PA neurosensorial é diagnosticada em RN antes do tratamento com a Biotina. Busca-se estudar se há um componente bioquímico ou genético que se relacionam com os tipos de perda e o desenvolvimento da audição<sup>36,37,38</sup>.

Dessa forma, a DB preenche critérios revisados de Wilson & Jungir para ser incluída na triagem neonatal<sup>20</sup>:

- Os pacientes afetados não mostram sinais clínicos nesse período da vida;
- É uma doença com alta morbidade e mortalidade;
- Não é uma doença extremamente rara.
- Possui um tratamento simples e efetivo, que modifica a história natural da doença.

Considerando que pacientes com DB podem apresentar alterações auditivas, o principal objetivo desse estudo foi avaliar a audição dos pacientes com diagnóstico de DB na forma parcial e profunda, em tratamento.

#### 6.2.4- Métodos

Trata-se de um estudo observacional transversal de amostra não probalística. Foram recrutadas crianças, com diagnóstico confirmado de DB, tanto na forma parcial quanto na profunda, triadas pelo PETN do Estado de Minas Gerais e atendidas no ambulatório de um grande complexo hospitalar do estado de Minas Gerais. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, sob CAAE número 19595319.7.0000.5149.

A avaliação audiológica foi realizada em uma sala devidamente equipada num grande centro hospitalar de Minas Gerais, após a consulta pediátrica do serviço especial de genética já programada a estes pacientes. Para o recrutamento das crianças, os pais ou responsáveis foram abordados pessoalmente, quando foram informados sobre o caráter voluntário da pesquisa e solicitados a permitir a participação de seu filho no estudo. Foi entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participação na pesquisa, antes do início dos exames, quando foram explicitados todos os procedimentos a serem realizados. Os pais ou responsáveis foram então solicitados a assinar o TCLE autorizando a participação voluntária de seu filho no estudo.

Como critérios de inclusão, considerou-se pacientes com diagnóstico e em tratamento da deficiência de Biotinidase, cujos pais ou responsáveis concordaram com a participação voluntária e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). Foram excluídos desta pesquisa pacientes cujos pais apresentaram dificuldade de compreensão do estudo, pacientes que apresentavam afecções de orelha externa e média identificadas à meatoscopia, ou participantes cujas avaliações auditivas não foram realizadas de maneira completa ou com respostas consistentes.

O recrutamento de pacientes ocorreu de março de 2019 a novembro de 2021, num total de 42 crianças, de idades diversas. Depois de aplicados os critérios de exclusão, vale frisar que todos os participantes foram colaborativos com a realização dos exames propostos de modo que foram realizados apenas os exames e avaliações em que a criança se portou de forma satisfatória para a obtenção de dados fidedignos. Desta forma, a amostra final contou com 39 participantes.

Vale salientar que nenhum tipo de medicação ou sedativo fora ministrado em nenhum paciente com o intuito de deixá-los mais cooperativos com a realização dos

exames e da avaliação audiológica, valendo-nos apenas do manejo destas crianças, principalmente junto aos pais e responsáveis, e de sua participação.

As avaliações auditivas foram realizadas de acordo com a idade de cada criança e considerando o seu estado físico para a obtenção de respostas consistentes. Assim, preconizou-se a realização de EOAT em todas as crianças, crianças de até 24 meses de idade foram submetidas à Avaliação do Comportamento Auditivo e Avaliação por meio do Audiômetro Pediátrico e em crianças maiores foi realizado Audiometria Tonal Limiar.

As EOAT são sons de fraca intensidade produzidos pela cóclea, que manifestam como uma onda sonora complexa no meato acústico externo durante alguns milissegundos. A criança permaneceu no colo de um dos pais, que esteve sentado numa cadeira durante todo o procedimento. A avaliação contempla uma ampla faixa de frequência, predominante de 1 KHz a 5 KHz, por meio de um estímulo acústico breve. A análise por banda de frequência permite uma noção da funcionalidade das células ciliadas externas e a presença das EOAT se dá quando a reprodutibilidade e a relação sinal/ruído apresentam valores dentro do esperado<sup>39</sup>.

Para avaliação do comportamento auditivo foram utilizados os instrumentos acústicos da banda rítmica (conjunto de instrumentos sonoros que possibilitam detectar perdas auditivas neurossensoriais de grau moderado a profundo); audiômetro pediátrico (detecta os níveis mínimos de respostas); anamnese infantil e otoscópio.

Após o preenchimento da anamnese (Anexos 3 e 4) foi realizada a inspeção visual do meato acústico externo, utilizando-se o otoscópio da marca da marca *Heine* 2,5V K100 com o objetivo de visualizar o meato acústico externo e a membrana timpânica, excluindo-se a presença de cerúmen ou corpo estranho que pudessem impedir a realização adequada do exame.

Para as crianças de até 6 meses, a avaliação auditiva foi realizada com quatro instrumentos acústicos da bandinha rítmica, sendo eles Guizo II, Sino, Agogô grande e Tambor, cujas características acústicas variavam nas frequências de 315 Hz a 5000 Hz e intensidade de 90 dBNPS. No momento do teste, a criança encontrava-se em estado de alerta a apresentação do som era feita nas duas orelhas separadamente, a uma distância de 20 cm perpendicularmente ao pavilhão auricular, estando a criança no colo de um dos pais ou responsável e com apoio de cabeça. Os estímulos tinham duração de 5 a 10 segundos. Os tipos de respostas observadas eram

registrados no protocolo de avaliação do comportamento auditivo. Neste grupo de crianças não foi realizada a investigação dos níveis mínimos de respostas com o uso do audiômetro pediátrico.

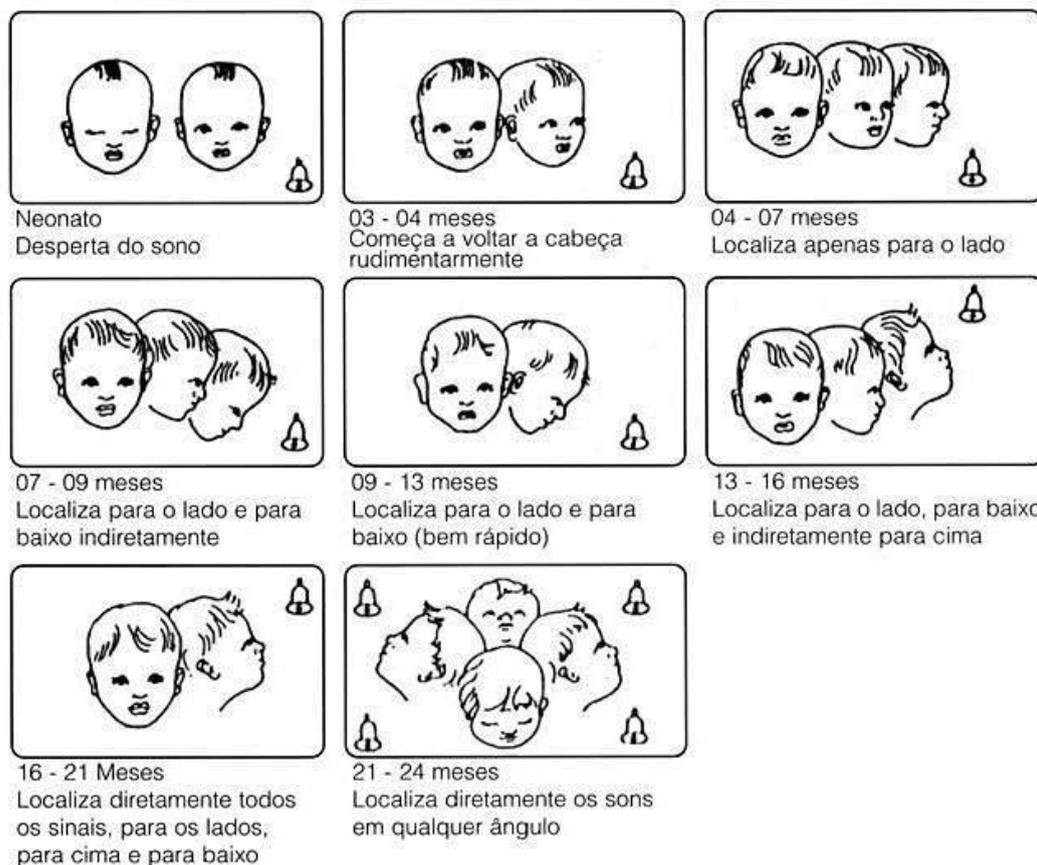
As crianças de 6 a 24 meses, além da avaliação por meio dos instrumentos acústicos da bandinha rítmica, foram submetidas à pesquisa do reflexo cócleo-palpebral (RCP), onde foi utilizado o instrumento sonoro Prato, que apresenta como características acústicas frequência de 2500 Hz e intensidade de 90 dBNPS. A resposta para o estímulo era classificada como presente ou ausente. Durante a avaliação também foi observado se houve presença ou não do reflexo de Startle. Cada criança foi colocada no colo de um dos pais ou responsável, com equipamento a uma distância de 50 cm de cada orelha. O primeiro examinador ficou atrás da criança operando o audiômetro pediátrico PA5 da marca Interacoustics® e o segundo examinador ficou de frente para o participante realizando a técnica de distração. A sala de teste era desprovida de estímulos visuais os quais poderiam se tornar competitivos. A intensidade mínima que ocorria a resposta em cada frequência era registrada no protocolo de avaliação do comportamento auditivo. Para esta pesquisa os seguintes parâmetros foram utilizados:

- o tipo de resposta considerada foi de localização sonora
- o tempo de apresentação do estímulo de 5 segundos;
- o tipo de sinal selecionado foi o *warble* (tom puro modulado).
- o tempo de intervalo para a resposta de aproximadamente 5 segundos;

Como última etapa da avaliação foi realizado o teste de reconhecimento de comandos verbais, que era composta de ordens simples direcionadas à criança. Nesse momento, eram avaliadas apenas crianças com idade entre 9 e 24 meses. A classificação para essa prova compreendia três níveis:

- Nível I (9 a 12 meses): “dá tchau/ joga beijo/ bate palma”
- Nível II (12 a 15 meses): “cadê a chupeta?/ cadê a mamãe?/ cadê o sapato?”
- Nível III (15 a 24 meses): “cadê a mão?/ cadê o cabelo?/ cadê o pé?”

O critério “passou-falhou” baseou-se na presença ou ausência de respostas motoras previamente definidas das crianças frente aos estímulos sonoros.



**Figura 1** - Desenvolvimento normal do comportamento auditivo segundo *Northern&Downs* (1991)<sup>40</sup>

Com relação ao desenvolvimento auditivo (Figura 1), a classificação da criança quanto ao seu desempenho, dentro, abaixo ou acima do esperado, era feita por meio da resposta apresentada, levando em conta sua faixa etária.

Os critérios adotados para os tipos de respostas foram os propostos por Northern& Downs<sup>22</sup> como: atenção, procura da fonte, localização lateral, localização indireta para baixo, localização direta para baixo, localização indireta para cima e localização direta para cima.

Inicialmente é apresentada uma análise descritiva dos dados. Variáveis qualitativas são apresentadas em forma de tabela de frequência. Variáveis quantitativas passaram pelo teste de normalidade de Shapiro Wilk e confirmaram a não normalidade das medidas. Em virtude disso, os valores descritivos são apresentados em forma de mediana e quartis. A mediana indica o valor central da sequência, ou seja, 50% dos dados estão abaixo dela e 50% estão acima dela. O primeiro quartil (Q1) é o valor que separa os 25% primeiros dados dos 75% maiores. O terceiro quartil (Q3) é o valor que separa os 75% primeiros dados dos 25% mais altos.

As comparações entre orelha direita e esquerda foram realizadas pelo teste de Wilcoxon uma vez que as duas medidas são provenientes dos mesmos indivíduos. Comparações entre os resultados dos pacientes com deficiência parcial e profunda são feitas utilizando o teste de Mann Whitney uma vez que são grupos independentes. Em ambos os casos, o nível de significância dos testes foi de 5%, ou seja, valores de  $p$  abaixo de 0,05 indicam que os pontos comparados são estatisticamente iguais.

Todos os dados obtidos foram analisados, organizados em um banco de dados e posteriormente submetidos a análise estatística. O *software* escolhido para a análise descritiva foi o SPSS 25.0 para variáveis de amostra isolada, como média, mediana e comparação de variáveis de interesse, considerando o índice de confiança de 95%.

### **6.2.5- Resultados**

A amostra final contou com 39 pacientes com idades entre 2 meses e 14 anos, com média de idade de 82,3 meses. Dos participantes, 19 eram do sexo masculino (48,7%), com idade entre 3 meses e 14 anos completos, com média de idade de 42,4 meses; e 20 pacientes do sexo feminino (51,2%), com idade entre 2 meses e 2 anos, com média de idade de 17,6 meses. Por não se tratar de uma doença que se relaciona ao cromossomo X, o acometimento de indivíduos do sexo masculino e feminino se dá de forma aleatória.

As avaliações e exames audiológicos foram realizados conforme descrito no fluxograma da figura 2.

Com relação à distribuição dos pacientes quanto a forma de deficiência de Biotinidase (profunda ou parcial) apresentada por cada um deles, a amostra contou com 3 pacientes com deficiência profunda enquanto 36 apresentaram-na sob a forma parcial.

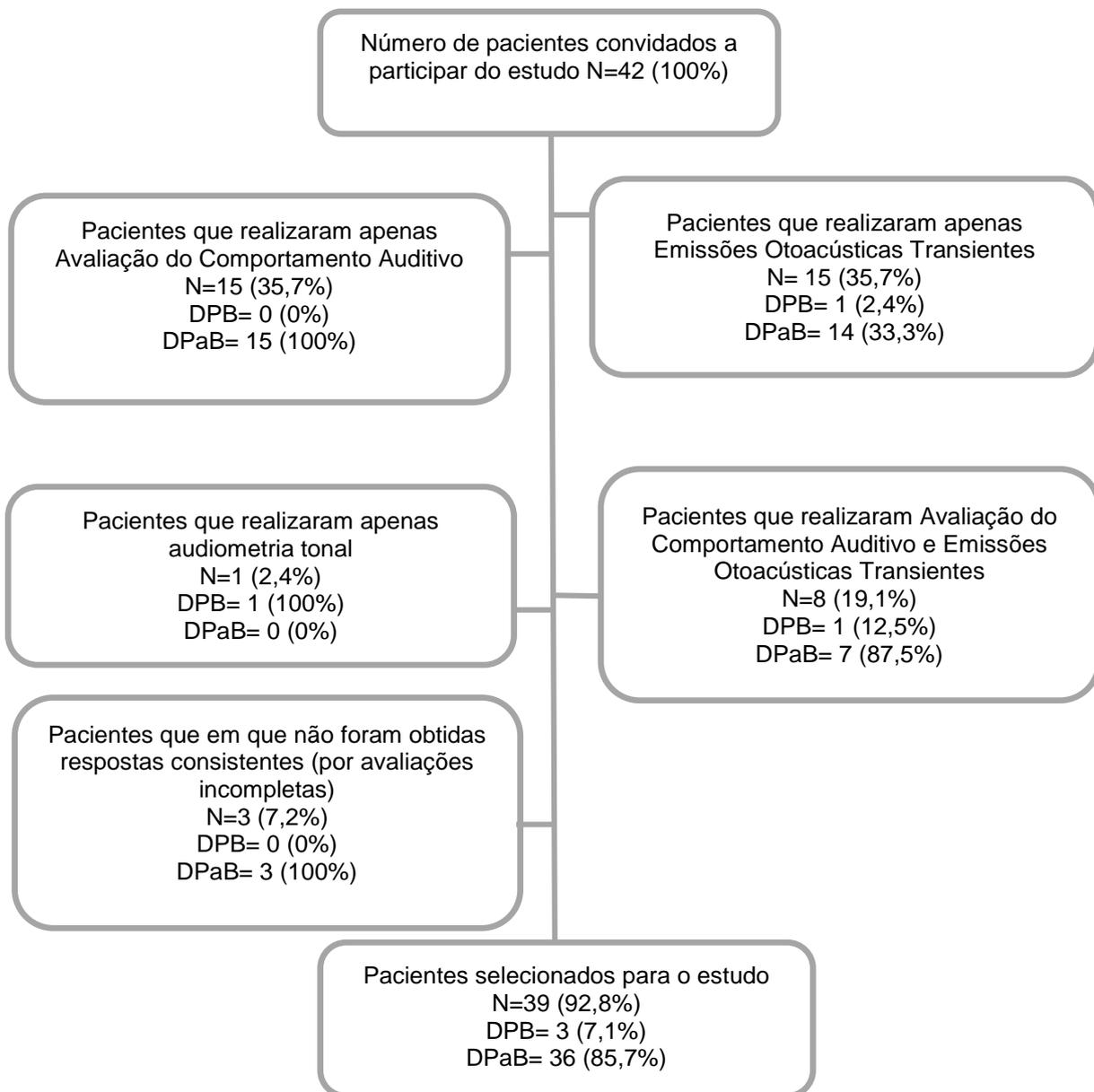
Com relação aos exames e avaliações realizadas em cada paciente, de acordo com a forma da deficiência de Biotinidase, parcial ou profunda, os pacientes foram abordados conforme o explicitado na figura 3.

Vale salientar que de todos os 39 pacientes que compunham a amostra, todos apresentaram avaliação audiológica normal e todos os exames aplicados dentro dos padrões de normalidade auditiva, independente do tipo de deficiência de Biotinidase que apresentavam. Além disso, apenas 1 deles, masculino, de 14 anos, com DPB, manifestava sintomas, com certa dificuldade de compreensão às ordens que lhe eram

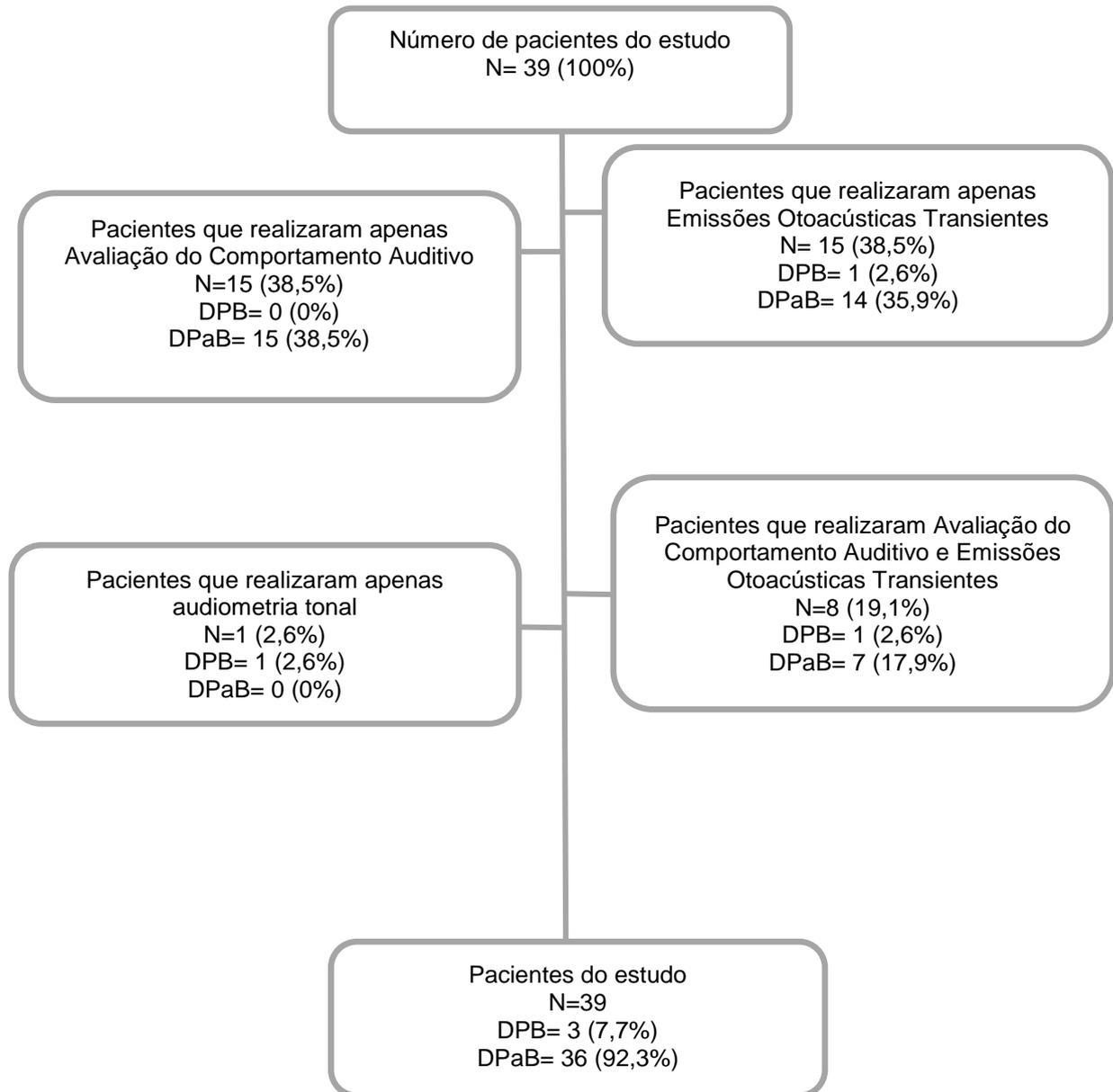
dadas durante o exame de audiometria tonal limiar. Todos os demais apresentavam-se sem quaisquer queixas ou sintomas.

Para os pacientes que apresentam teste bioquímico que corrobore a hipótese diagnóstica de doença de Biotinidase, que já fora evocada com o resultado positivo pelo exame de triagem neonatal (teste do pezinho), o tratamento é iniciado de imediato, ou seja, assim que firmado o diagnóstico pela dosagem sérica da Biotinidase, o tratamento com reposição de Biotina já é instituído.

Desta forma, o período médio da idade de diagnóstico e, conseqüentemente, início do tratamento, na amostra em questão, variou entre 9 dias e 62 dias, com mediana de idade de 29 dias.



**Figura 2** - Fluxograma da seleção da amostra com base nos exames audiológicos realizados de acordo com cada paciente.



**Figura 3** - Divisão quanto aos exames audiológicos realizados a o tipo de deficiência de Biotinidase

Com relação às EOAT, a tabela 6 apresenta as características gerais da amostra. São 23 participantes, e 52,2% da amostra composta por participantes do gênero feminino e 91,3% com a forma da deficiência de Biotinidase parcial. A mediana da idade à época da avaliação é de 24 meses e do diagnóstico e início do tratamento é de 29 dias.

**Tabela 6** - Características gerais dos dados das Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT) (= 23)

Sexo	n	%
Masculino	11	47,8
Feminino	12	52,2
<i>Forma da deficiência de Biotinidase</i>		
Parcial	21	91,3
Profunda	2	8,7
	Mediana	Q1 - Q3
Idade da avaliação audiológica (em meses)	24	(10 - 48)
Idade do diagnóstico e início do tratamento (em dias)	29	(27 - 32)
1000 Hz - Orelha direita	9,7	(6,5 - 15,2)
1000 Hz - Orelha esquerda	9,5	(8 - 10,7)
1410 Hz - Orelha direita	17,1	(11,2 - 19)
1410 Hz - Orelha esquerda	16,5	(11,8 - 20,5)
2000 Hz - Orelha direita	15,9	(12,7 - 20,8)
2000 Hz - Orelha esquerda	14,5	(13 - 17,8)
2830 Hz - Orelha direita	13,6	(9,7 - 18,1)
2830 Hz - Orelha esquerda	13,7	(9,2 - 20,3)
4000 Hz - Orelha direita	13	(6,5 - 17,9)
4000 Hz - Orelha esquerda	9,3	(6,2 - 13,5)
Critérios de normalidade das EOAT		Média
Reprodutibilidade da Sonda		82,93%
Estabilidade da Sonda		96,28%
Relação Sinal/Ruído		6,98dB

**Legenda:** N=número de participantes dB=Decibéis

A mediana e os quartis são apresentadas também para todas as bandas de frequência tanto para orelha direita quanto para a esquerda. O maior valor mediano encontrado foi o de 1410 Hz da orelha direita, 17,1. O menor valor mediano encontrado foi de 9,3 de 4000 Hz da orelha esquerda. Os testes têm o poder de avaliar se os números encontrados, ao serem comparados, indicam diferença significativa de resultados.

Por serem dados não normais e pareados (orelhas direita e esquerda foram coletadas em um mesmo indivíduo), a comparação entre orelha direita e esquerda é feita utilizando o teste de Wilcoxon.

As análises de todas as crianças indicam que não existe diferença entre orelha direita e esquerda em nenhuma das frequências que foram comparadas ( $p > 0,05$ ).

O mesmo acontece quando separamos os grupos. As análises das crianças com deficiência parcial, indicam que não existe diferença entre orelha direita e esquerda em nenhuma das frequências que foram comparadas ( $p > 0,05$ ).

Para as crianças com deficiência profunda o teste é feito, mas os resultados precisam ser analisados com cuidado. Por serem apenas 2 observações, só é possível produzir a mediana dos valores. Não existe diferença estatística conforme mostram os valores de  $p$  acima de 0,05.

Para analisar se há diferença entre as bandas de frequência de cada orelha entre os dois grupos (deficiência parcial e profunda), o teste aplicado é o teste de Mann Whitney, que tem o objetivo de comparar dois grupos distintos em relação a uma variável. Novamente os resultados precisam ser avaliados com cuidado já que um dos grupos possui apenas 2 casos. Não existe diferença significativa entre os grupos em nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0,05$ ).

Com relação aos pacientes que foram submetidos à Avaliação do Comportamento Auditivo, todos apresentaram resposta satisfatória. De 0 a 6 meses e 29 dias, as respostas mais comuns foram: atenção auditiva, procura da fonte e localização lateral. Todos os participantes desse grupo tiveram Reflexo cócleo-palpebral (RCP) presente e de *Startle* e resposta a sons verbais adequada a idade. De 7 meses a 15 meses e 29 dias, as respostas mais comuns foram: localização lateral, localização indireta para baixo e localização indireta para cima, com RCP presente em todos os participantes e resposta a sons verbais adequada a idade e reconhecimento de comandos verbais em nível II (dar tchau / jogar beijo / bater palma). Por fim, de 16 meses a 24 meses, as respostas mais comuns foram: localização lateral, localização direta para baixo e localização direta para cima. Todos os participantes desse grupo tiveram RCP presente, resposta a sons verbais adequada a idade e reconhecimento de comandos verbais em nível III (cadê a mão? / cadê o cabelo? / cadê o pé?).

Os níveis mínimos de audição encontrados com o uso do audiômetro pediátrico foi realizada utilizando tons puros modulados (*warble*) em cada orelha nas frequências de 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz e 4000 Hz foram adequados e as respostas tidas como satisfatórias. Os resultados encontram-se expostos na tabela 7.

**Tabela 7** - Média dos níveis mínimos de audição encontrados com o uso do audiômetro pediátrico (N = 15).

Frequência e orelha analisadas	Idade entre 7 meses a 24 meses de vida		
	Média	Mediana	Desvio Padrão
500 Hz Orelha Direita	20,0	20,0	0
500Hz Orelha Esquerda	20,0	20,0	
1000Hz Orelha Direita	20,0	20,0	0
1000Hz Orelha Esquerda	20,0	20,0	
2000Hz Orelha Direita	21,6	20,0	3,8
2000Hz Orelha Esquerda	21,6	20,0	
4000Hz Orelha Direita	21,6	20,0	3,8
4000Hz Orelha Esquerda	21,6	20,0	

Com relação à Audiometria Tonal, a qual um paciente fora submetido, este não apresentou nenhum tipo de perda auditiva em nenhuma frequência testada.

### 6.2.6 - Discussão

No presente estudo, todas as crianças avaliadas encontravam-se em tratamento a base de reposição de Biotina de forma livre variando entre 5 a 30 mg/dia. Todo o grupo amostral apresentava diagnóstico de DB, nas formas parcial ou profunda, através da dosagem da atividade enzimática e do sequenciamento gênico dos alelos envolvidos da manifestação da doença.

Apesar de, num primeiro momento, considerarmos a amostra composta por poucos pacientes, vale salientar que a DB integra o Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais – PTN-MG desde 2013, e segundo dados do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio ao Diagnóstico da Faculdade de Medicina da UFMG – NUPAD UFMG, até o final de 2021, período de término da coleta de dados que embasam este estudo, 1.927.264 recém nascidos haviam sido triados para DB, dos quais, apenas 148 apresentaram teste bioquímico confirmatório positivo, estando todas em acompanhamento ambulatorial, ressaltando que a forma profunda fora apenas vista em 10 crianças. Sendo assim, no estado de Minas Gerais, de 2013 a 2021, 6,7% de todas as crianças diagnosticadas com DB apresentavam a doença sob a forma de DPB.

Em relação à amostra que compõe este estudo, fora conseguido um N amostral de 42 crianças elegíveis ao estudo (28,3%) do total de crianças que se encontravam em acompanhamento pediátrico para DB, num período de coleta de cerca de um ano e quatro meses. Por razões também já descritas, relacionadas à desatenção da

criança ou sinais de cansaço da mesma para a realização dos exames propostos, apenas 39 foram, de fato, selecionadas para o estudo (26,4%)

Considerando as crianças com DPB, foram recrutadas 3 crianças, que representam 2,0% de todas as crianças em acompanhamento pediátrico para DB; 7,2% do primeiro recrutamento de crianças e, após a seleção dos pacientes realmente elegíveis para o estudo, esta percentagem salta para 7,7%, um aumento de 0,5%.

A DPB fora vista em 10 crianças de 2013 até o final da coleta de dados no fim de 2021. Logo, a amostra deste estudo conta com três crianças com DPB, o que compreende 30% do total de crianças com DPB. Isso mostra o quão a DB, em suas formas parcial e profunda, são raras, e o aparente quantitativo pequeno de pacientes que compõe a amostra final, corrobora com a baixa incidência desta em âmbito mundial e nacional<sup>2,3,4,5</sup>.

A DB e sua relação com a perda auditiva foi relatada primeiramente por Wolf et al. (1983)<sup>20</sup>, nos Estados Unidos, como um achado ocasional e incomum em três crianças que já estavam em suplementação com Biotina. Os autores ainda relatam como uma principal hipótese para este achado seria o acúmulo de peptídeo de biocitina (s-N- biotinyL-L-lisina) e demais erros inatos do metabolismo, considerando que a suplementação com Biotina como terapêutica não mostrou-se inferior no desenvolvimento sintomatológico neurológico de outros sinais comuns na DPB, até mesmo como comprometimento visual, por exemplo, sinal muito prevalente nestes doentes.

Este achado com relação ao comprometimento oftalmológico e auditivo inclusive corrobora o estudo de caso proposto por Taitz et al. (1985)<sup>41</sup> no Reino Unido, no qual foi observado que a baixa de Biotina associada a DB leva a alterações visuais e auditivas, e os sintomas apareceram em média em torno do primeiro ano de vida<sup>23</sup>.

Wolf et al. (2002)<sup>28</sup> apresentaram um estudo relacionando PA com DPB, no qual identificaram 33 crianças de 29 famílias que foram submetidas à triagem neonatal nos Estados Unidos e tiveram tal diagnóstico firmado. Contudo, da amostra analisada, todas apresentavam-se de forma assintomática a queixas auditivas e à avaliação audiológica apresentaram alterações apenas vistas por meio do Potencial Evocado de Tronco Encefálico e Audiometria Tonal Limiar, das quais, com base nestes exames, 25 apresentaram PA do tipo neurossensorial de grau leve a severo. Observou-se que a média de idade do início dos sintomas nas crianças com PA foi de 9,6 meses e o tratamento foi iniciado aos 27,9 meses, em média. Houve elevada incidência dos

problemas de aprendizado e linguagem nas crianças com perda auditiva, cerca de 78 e 70%, e nas crianças sem perda auditiva, cerca de 62 e 50%. As configurações audiométricas na maioria das crianças com DPB, após tratamento, não foram progressivas<sup>28</sup>. Pode-se evocar a possibilidade de a suplementação com Biotina ter melhorado a atenção destas crianças, não agindo de forma direta sobre a audição das mesmas, mas sim sobre seu estado atencional durante a audiometria.

Neste estudo, todas as crianças estavam em tratamento com Biotina e, traçando um paralelo, Heller et al. (2002)<sup>41</sup> realizaram um estudo em cobaias para determinar a participação da Biotinidase e da concentração de Biotina nas vias auditivas. Por meio de camundongos, ele relatou o ciclo químico da enzima. A Biotina é uma vitamina hidrossolúvel que é covalentemente ligada a quatro carboxilases que são essenciais para a síntese de ácidos graxos, catabolismo de aminoácidos e glicogênese. As holocarboxilases (aminoácidos) são degradadas e a Biotina é liberada em forma de biocitina (biotil-O-lisina) ou em forma de peptídeos. Nele, foram realizadas seções de tecido cerebral do tálamo, mesencéfalo, córtex frontal, córtex posterior, hipocampo, corte enterorrinal, bulbo olfatório, ponte, medula e medula espinhal dos camundongos, onde foram extraídos o RNA do exon 42, que expressam a Biotinidase em humanos e nos camundongos. Utilizando a técnica de coloração imuno-histoquímica leve, a Biotinidase foi localizada em todas as regiões previamente seccionadas e testadas, porém, em baixa concentração. Além dessas estruturas, houve coloração de neurônios sensoriais do gânglio espiral, no citoplasma dos dendritos de neurônios dos núcleos cocleares dorsal e ventral bem como do complexo olivar superior, indicando maior concentração e atividade enzimática na cóclea (CCI) e nas principais vias auditivas<sup>41</sup>. Em relação ao tratamento, o estudo revela que a Biotina pode retardar a lesão nas vias auditivas ou estabilizar as alterações, o que foi citado nos demais estudos usados de base teórica nesse trabalho<sup>17,26, 27, 28</sup>.

Welling et al. (2007)<sup>43</sup> acompanharam a audição de uma criança com DPB durante dez anos por meio de audiometria. A criança aos 16 meses, quando foi diagnosticada, apresentava perda auditiva discreta sendo iniciada a suplementação com Biotina. Durante o seguimento por nove anos, a criança evoluiu para perda de grau moderado e apresentou grau profundo, bilateralmente, em altas frequências aos 10 anos de idade. Em estudo similar, proposto por Tsao et al. (2002)<sup>44</sup> foi relatado caso de uma criança com DPB, no qual os pais possuíam atividade enzimática de indivíduos heterozigotos. A criança apresentou episódio de ataxia aos 17 meses e aos

19 meses houve piora da marcha, malformação de Chiari I e diagnóstico de PA neurossensorial moderada bilateral. Após 8 meses de tratamento com 5mg diários de Biotina, pode-se observar remissão dos sintomas inclusive da perda auditiva, pois a criança apresentou limiares auditivos normais<sup>44</sup>. Todos os sintomas foram cessados após suplementação da Biotina, achado este que é muito incomum nas buscas teóricas que foram utilizadas para embasar este estudo. Em específico, o estudo além de relatar as alterações, salienta a necessidade de estudos amplos populacionais para novas mutações uma vez que com a situação territorial e econômica, cada vez mais há aumento de imigrantes, favorecendo essa miscelânea gênica.

No presente estudo, todas as crianças apresentavam-se assintomáticas e apenas uma, de 14 anos, com diagnóstico de DPB, apresentava queixas de dificuldade de aprendizagem e para obedecer a determinados comandos. Neste paciente fora realizado Audiometria Tonal Limiar, cujos resultados estiveram dentro dos critérios de normalidade, não indicando perda auditiva de nenhum grau.

Na amostra observada não foram evidenciadas alterações nas EOAT dos participantes. Em todos os pacientes, estas foram presentes e não foram encontradas diferenças estatísticas das amplitudes de resposta por banda de frequência em relação às orelhas dos participantes nem na comparação dos grupos com DPB e DPaB. Não foram encontrados estudos na literatura para corroborar esses achados.

Na avaliação do comportamento auditivo, realizada com os instrumentos acústicos, notou-se que com relação às respostas de localização auditiva quando comparadas com os parâmetros delineados segundo Northern&Downs<sup>40</sup>, todas as crianças estudadas não apresentaram quaisquer alterações. Todavia, na amostra em questão, observou-se que com crianças de idade superior a um ano necessitaram de maior tempo de condicionamento, apresentando agitação e tempo de atenção reduzido. Nessas crianças foi necessário maior número de interrupções no exame, porém essas variações não interferiram nas respostas obtidas, que se encontraram dentro do padrão de normalidade.

O teste do pezinho, que é um dos quatro exames realizados na triagem neonatal, é o responsável por diagnosticar a deficiência da Biotinidase. O teste está disponível no Brasil, distribuído na rede de Atenção Básica, Hospitais e Maternidades. O recomendado é que o teste seja feito entre o 3º e o 5º dia de vida do recém-nascido<sup>28</sup>. A triagem neonatal é essencial para se diagnosticar de forma precocemente a DB,

independente da forma como esta vier a se apresentar, a fim de se iniciar o tratamento de forma adequada e precoce

O diagnóstico precoce da DB é essencial, mesmo apresentando-se como uma desordem metabólica rara, a incidência da DB é significativa e as consequências que ela promove no organismo dos pacientes e as implicações na qualidade de vida destes são muito impactantes quando não diagnosticadas, tratadas em tempo oportuno e acompanhadas, como alterações neurológicas, perda auditiva e comprometimento da visão<sup>3,27</sup>.

Vale salientar algumas limitações do estudo, ligadas à amostra. Contudo, os achados poderão subsidiar novos estudos que contemplem esta temática. Cabe enfatizar que apesar da amostra apresentar-se em número absoluto pequeno, quando considerada em números relativos, ela é relevante. Destaca-se a importância da avaliação audiológica na infância feita pela Fonoaudiologia e acompanhamento rotineiro, não apenas nesse grupo específico, mas em todas as crianças, visando melhorar a qualidade de vida, e realizando a intervenção precoce quando necessário, proporcionando um desenvolvimento seguro e saudável.

Sugere-se, desta forma, que estas crianças sejam submetidas a acompanhamento fonoaudiológico constante que contemple não somente a área audiológica, mas de linguagem e demais demandas que estes pacientes apresentam, dada a sintomatologia diversificada que a DB pode apresentar e as repercussões severas que os pacientes acometidos podem desenvolver.

Estudos prospectivos de seguimento longitudinal desses pacientes e outros exames audiológicos são necessários para avaliar possíveis comprometimentos na via auditiva periférica e central, bem como a possibilidade de desenvolverem PA progressivas. Como encontrado na revisão da literatura utilizada para subsidiar este estudo, a grande maioria das pesquisas envolvendo a DB e perda auditiva são de relato de caso ou de amostras relativamente pequenas, destacando o presente estudo que conta com uma amostra maior e uma gama de exames mais diversificada.

### **6.2.7- Conclusão**

Das 39 crianças analisadas neste estudo, todas diagnosticadas com Deficiência da Biotinidase e em tratamento, independente desta ser na forma parcial ou profunda, apresentam Avaliação Auditiva Comportamental adequada para a idade, presença de Emissões Otoacústicas Transientes e Audiometria Tonal Limiar sem perdas. Apenas

uma delas apresentava dificuldade para obedecer determinados comandos. Todas as demais apresentavam-se sem quaisquer sintomatologias. Não foram observadas diferenças estatisticamente relevantes entre as comparações de bandas de frequência nas EOAT, na amplitude de resposta por banda de frequência em relação às orelhas dos participantes nem na comparação dos grupos com DPB e DPaB.

### 6.2.8- Referências

1. Wolff B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly Ws, Valle D. *J Inherit Metab Dis.* 2001; 3935-62.
2. Wolf B. Biotinidase deficiency: if you have to have an inherited metabolic disease, this is the one to have, *Genet Med.* 2012; 14: 565–575.
3. Arantes RR, Rodrigues VM, Norton RC, Starling ALP. Deficiência de Biotinidase: da triagem neonatal à confirmação diagnóstica e ao tratamento. *Revista Médica de Minas Gerais* 2016; 48-51.
4. Lara MT, Gurgel-Giannetti J, Aguiara MJ, et al. High incidence of Biotinidase deficiency from a pilot newborn screening study in Minas Gerais, Brazil. *JIMD Rep* 2015;24:103–107
5. Lara MT. Triagem neonatal para deficiência de Biotinidase no estado de Minas Gerais [Dissertação]. Belo Horizonte: Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2010. 102 p.
6. Bonjour JP. Biotin in man's nutrition and therapy – a review. *Int J Vitam Nutr Res* 1977;47:107–118.
7. Senanayake DN, Jasinge EA, Pindolia K, Wanigasinghe J, Monaghan K, Suchy SF, Wei S, Jaysena S, Wolf B. Corrigendum to “First contiguous gene deletion causing Biotinidase deficiency: The enzyme deficiency in three Sri Lankan children” [*Mol. Genet Metab. Rep.* 2 (2016) 81–84] *Mol. Genet Metab. Rep.* 2017; 11:95
8. Swango KL, Demirkol M, Hüner G et al. Partial Biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the Biotinidase gene. *Hum Genet* 1998;102:571–575.
9. Norrgard KJ, Pomponio RJ, Swango KL. Double mutation (A171T and D444H) is a common cause of profound Biotinidase deficiency in children ascertained by newborn screening the the United States. *Mutations in brief* 1998;11(5):410
10. 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.
11. 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.

12. Gannavarapu S, Prasad C, DiRaimo J, Napier M, Goobie S, Potter M, et al. Biotinidase deficiency: Spectrum of molecular, enzymatic and clinical information from newborn screening Ontario, Canada. *Mol Genet Metab.* 2015; 116(3):146-51.
13. Al-Jasmi FA, Al-Shamsi A, Hertecant JL, Al-Hamad SM, Souid AK. Inborn Errors of Metabolism in the United Arab Emirates: Disorders Detected by Newborn Screening. *JIMD reports.* 2015;11:22.
14. Wiltink RC, Kruijshaar ME, van Minkelen R, Onkenhout W, Verheijen FW, Kemper EA, et al. Neonatal screening for profound Biotinidase deficiency in the Netherlands: consequences and considerations. *EJHG.* 2016; 24(10):1424-9.
15. Borsatto T, Sperb-Ludwig F, Lima SE, S.Carvalho MR, S. Fonseca PA, S. Camelo J, Jr, et al. Biotinidase deficiency: Genotype-biochemical phenotype association in Brazilian patients. *PLoS ONE* 2017;12(5): e0177503.
16. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria Nº 2.829 de 14 de Dezembro de 2012. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). *Diário Oficial da União* 2 dez2012;Seção 1.
17. Grier RE, Heard GS, Watkins P, Wolf B. Low Biotinidase activities in the sera of patients with impaired liver function: evidence that the liver is the source of serum Biotinidase. *ClinChimActa*1990;186:397–400.
18. Pabuccuoğlu A, Aydoğdu S, Bas M. Serum Biotinidase activity in children with chronic liver disease and its clinical significance. *J PediatrGastroenterolNutr*2002;34:59–62.
19. Strovel T. E., Cowan T. M., Scott A. I., Wolf B., and on behalf of the ACMG Biochemical Genetics Subcommittee of the Laboratory Quality; Laboratory diagnosis of Biotinidase deficiency. [Update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics Assurance Committee] *GENETICS in MEDICINE* 2017; 5
20. Wolf B, Grier RE, Allen RJ, Goodman SI, Kien CL. Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency. *ClinChimActa*1983;131:273–281.
21. Heard GS, SecorMcVoy JR, Wolf B. A screening method for Biotinidase deficiency in newborns. *ClinChem* 1984;30:125–127.
22. Schoos R, Verloes A, Bourguignon JP, Koulischer L. Programs of systematic screening in neonatology. Pharmacoeconomic aspects. *Rev Med Liege* 1998;53:311–315.
23. Heard GS, Wolf B, Jefferson LG, et al. Neonatal screening for Biotinidase deficiency:

- results of a 1-year pilot study. *J Pediatr* 1986; 108:40–46
24. Dobrowolski SF, Angeletti J, Banas RA, Naylor EW. Real time PCR assays to detect common mutations in the Biotinidase gene and application of mutational analysis to newborn screening for Biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab* 2003;78:100–107.
  25. Bratton AC, Marshall Jr EK. A new coupling component for sulfanilamide determination. *J Biol Chem* 1939;128:537–550.
  26. Wolf B. Biotinidase deficiency: new directions and potential concerns. *Curr Treat Options Neurol* 2003;5:321–328.
  27. Grier RE, Heard GS, Watkins P, Wolf B. Low Biotinidase activities in the sera of patients with impaired liver function: evidence that the liver is the source of serum Biotinidase. *Clin Chim Acta* 1990;186:397–400.
  28. Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound Biotinidase deficiency. *J Pediatr*. 2002; 140(2):242-6.
  29. Möslinger D, Mühl A, Suormala T, Baumgartner R, Stöckler-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound Biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003;162(suppl 1):46–49.
  30. Sarafoglou K, Bentler K, Gaviglio A, Redlinger-Grosse K, Anderson C, McCann M, Bloom B, Babovic-Vuksanovic D, Gavrillov D, Berry SA. High incidence of profound Biotinidase deficiency detected in newborn screening blood spots in the Somalian population in Minnesota. *J Inherit Metab Dis*. 2009;(Suppl 1):69-73.
  31. Szymańska E, Średzińska M, Ługowska A, Pajdowska M, Rokicki D, Tyki-Szymańska A. Outcomes of oral biotin treatment in patients with Biotinidase deficiency — Twenty years follow-up. *Mol. Gen. Met Reports* 2015.
  32. Mcvoy JR, Levy HL, Lawler M, Schmidt MA, Ebers DD, Hart PS, et al. Partial Biotinidase deficiency: clinical and biochemical features. *J Pediatr*. 1990; 116(1):78-83.
  33. American Academy of Audiology. Identification of hearing loss & middle-ear dysfunction in preschool & school age children. *Audiology Today* 1997;9(3):18–20.
  34. Matkin, N. D. (1984) Early recognition and referral of hearing impaired children. *Pediatrics in Review*, 6, 151-158
  35. Castro SS, César CLG, Carandina L, Barros MBA, Alves MCGP, Goldbau M. Deficiência visual, auditiva e física: prevalência e fatores associados em estudo de base populacional. *Cad Saúde Pública*. 2008;24(8):1773-82.

36. U.S. Preventive Services Task Force. Universal screening for hearing loss in newborns: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Pediatrics* 2008;122:143–148
37. Behrman RE, Jenson HB, Kliegman R, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2003
38. Holden-Pitt L, Diaz J. Thirty years of the annual survey of deaf and hard of hearing children and youth: a glance over the decades. *Am Ann Deaf* 1998; 143:72–76
39. Vasconcelos, Rosângela Melo, Serra, Lucieny Silva Martins e Aragão, Vânia Maria de Farias. Emissões otoacústicas evocadas transientes e por produto de distorção em escolares. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia* [online]. 2008, v. 74, n. 4 [Acessado 17 Novembro 2021] , pp. 503-507
40. Northern JI & Downs MP. Behavioral hearing testing of children. In: *Hearing in children*. 4th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1991.
41. Heller AJ, Stanley C, Shaia WT, Sismanis A, Spencer RF, Wolf B. Localization of Biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in Biotinidase deficiency. *Hear Res*. 2002;173(1-2):62-8.
42. Taitz LS, Leonard JV, Bartlett K. Long-term auditory and visual complications of Biotinidase deficiency. *Early Human Development* 1985; 11:325-331.
43. Welling DB. Long-term follow-up of hearing loss in Biotinidase deficiency. *J Child Neurol*. 2007; 22(8):1055-7.
44. Tsao CY, Kien CL. Complete Biotinidase Deficiency presenting as reversible progressive ataxia and sensorineural deafness. *Journal of Child Neurology*, 2002;17:2.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Deficiência de Biotinidase se manifesta como um erro inato do metabolismo, sendo uma desordem orgânica grave que exige um diagnóstico precoce, preciso, tratamento e acompanhamento adequados, uma vez que sua repercussão na qualidade de vida do indivíduo é extremamente séria, podendo acarretar desordens severas no paciente em questão afetando de modo muito impactante sua qualidade de vida.

Ainda se verifica uma escassez de estudos que promovam estabelecer relações da DB com perda auditiva, como já é visto de forma mais exuberante estudos que a relacionam com outras desordens, de cunho neurológico e oftalmológico, por exemplo. A fisiopatologia da doença no âmbito audiológico ainda não é bem elucidada, e novos estudos são necessários para que se tenha um conhecimento completo de todas as implicações que esta doença pode cursar nos indivíduos por ela afetados.

O acompanhamento fonoaudiológico é essencial para estas crianças, buscando verificar acometimentos auditivos e uma intervenção o mais precoce possível para estas alterações que forem sendo percebidas. Nota-se que mesmo mediante alguns exames audiológicos normais, alguns pacientes, principalmente os que apresentam a DPB cursam com alterações cognitivas de dificuldade de compreensão. Por isso, ressalta-se a importância de não se ter apenas a avaliação audiológica inicial, mas sim, o acompanhamento audiológico constante destes pacientes.

Além do âmbito audiológico, é válido as avaliações Fonoaudiológicas de linguagem, para se detectar alterações de linguagem oral e escrita e outras desordens comunicativas e até mesmo comportamentais ou de cognição.

Por fim, faz-se necessário estudos prospectivos que acompanhem estes pacientes de maneira rotineira e por períodos maiores, que avaliem a via auditiva central e que se valham de instrumentos neurofisiológicos, como exames de Potencial Encefálico de Tronco Auditivo, P300, dentre outros de acordo com as peculiaridades de cada paciente (faixa etária, comorbidades, etc.).

## 8. ANEXOS

### 8.1 Anexo 1 - Termo de aprovação do projeto de pesquisa no COEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA DE PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE

**Pesquisador:** Patrícia Cotta Mancini

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 19595319.7.0000.5149

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da UFMG

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.662.575

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo observacional analítico longitudinal a ser realizado com pacientes com suspeita e com diagnóstico confirmado de deficiência de Biotinidase, tanto na forma parcial quanto na profunda, triados pelo Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais e atendidos no Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG). A hipótese apresentada é que pacientes com deficiência da biotinidase apresentam perdas auditivas e/ou atraso do desenvolvimento auditivo. O objetivo é avaliar e acompanhar a audição dos pacientes com DB, diagnosticados pelo Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais (PTN-MG), tratados e acompanhados no Ambulatório de Deficiência de Biotinidase do Serviço Especial de Genética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais/EBSERH. As crianças com suspeita de terem DB, parcial ou profunda, consultam-se no Ambulatório de DB do Serviço Especial de Genética do HC/UFMG, com equipe composta por geneticista e pediatras.

Este estudo propõe fazer exames audiológicos de todos os pacientes atendidos na primeira consulta, mesmo naqueles ainda sem confirmação diagnóstica e sem usar a biotina. A partir de então, as crianças com diagnóstico da doença repetirão o(s) exame(s) aos três, aos seis e aos 12 meses de idade. Aqueles pacientes que já estão em tratamento no Serviço, independentemente da idade, também serão submetidas à exame audiológico, escolhido de acordo com a faixa etária, quando comparecerem ao Serviço para avaliação médica. De acordo com o resultado obtido farão

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.662.575

acompanhamento ou serão submetidos a tratamento. Os exames serão realizados no Laboratório de Pesquisa da Fonoaudiologia.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Avaliar a existência de alterações auditivas em pacientes com suspeita, com diagnóstico e ainda sem tratamento, e com diagnóstico e em tratamento da deficiência de biotinidase, triados no Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais.

Objetivo Secundário:

- . Avaliar a audição dos pacientes antes do início do tratamento;
- Verificar a associação de perdas auditivas com o fenótipo bioquímico;
- Verificar a associação de perdas auditivas com o genótipo do paciente;
- Avaliar a eficácia do tratamento da deficiência da biotinidase em relação às deficiências auditivas encontradas e relacionadas à deficiência enzimática;
- Avaliar a eficácia do tratamento da deficiência da biotinidase em manter a audição dos pacientes sem alterações durante o período de estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos apresentados:

Este estudo traz riscos mínimos aos participantes, uma vez que os exames são indolores, não invasivos e não acarretam dano à integridade física ou moral dos participantes. Os riscos estão relacionados a possível cansaço dos participantes durante as avaliações, mas todo cuidado será tomado para garantir a realização dos exames no menor período de tempo possível. Além disso, caso o participante apresente algum sinal de incômodo ou

desconforto, a avaliação será imediatamente interrompida, podendo ser reagendada para outro dia, a critério dos pais ou responsáveis.

Benefícios apresentados:

Não há benefícios diretos aos participantes, mas todos receberão uma via do resultado de cada exame auditivo realizado. O presente estudo por sua vez trará informações importantes acerca da audição de pessoas com deficiência da biotinidase, podendo subsidiar a implantação da avaliação audiológica de rotina nesses pacientes, contribuindo para um melhor cuidado com a saúde dessa população.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.662.575

Trabalho de relevância na área de Ciências da Saúde que busca estudar a deficiência da Biotinidase e suas consequências auditivas, uma vez que estas informações são escassas na literatura, de acordo com os pesquisadores.

Trata-se de estudo observacional analítico longitudinal a ser realizado com pacientes com suspeita e com diagnóstico confirmado de deficiência de Biotinidase, tanto na forma parcial quanto na profunda, triados pelo Programa de Triagem Neonatal do estado de Minas Gerais e atendidos no Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFGM).

Na versão anterior foram levantadas as seguintes recomendações:

Nos documentos de TCLE e TALE:

- 1) Informar o tempo que será dispendido para participar da pesquisa (tempo gasto na realização dos testes);
- 2) Estabelecer os benefícios diretos homogeneamente em todos os termos, colocando informação de acesso aos laudos dos exames e encaminhamentos dos participantes para acompanhamento, caso necessário;
- 3) Informar que os laudos dos resultados dos exames serão anexados aos respectivos prontuários dos participantes;
- 4) Informar que os termos seguem impressos em duas vias, uma que ficará em poder do participante, outro do pesquisador;
- 5) Esclarecer se irá utilizar dados dos prontuários dos participantes, em função da afirmativa presente no TALE (6-12 anos) "sempre saber o que está acontecendo com os dados que vamos usar do seu prontuário". Caso utilizar, informar que dados adicionais serão obtidos dos prontuários, informando também quais serão estes dados. Essa solicitação de usar dados do prontuário deverá estar em todos os documentos de TALE e TCLE.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Nesta versão, foi anexado a carta resposta às diligências realizadas por este CEP, a saber:

- 1) Informar o tempo que será dispendido para participar da pesquisa (tempo gasto na realização dos testes); Foi informado nos TCLEs e TALEs que o tempo necessário para realização dos exames auditivos é de 40 a 45 minutos.
- 2) Estabelecer os benefícios diretos homogeneamente em todos os termos, colocando informação

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.662.575

de acesso aos laudos dos exames e encaminhamentos dos participantes para acompanhamento, caso necessário;

Nos TALEs e TCLEs foi incluído o seguinte trecho: "Você receberá o resultado de cada exame auditivo realizado e ele também será incluído no seu prontuário do Hospital das Clínicas. Caso sejam encontradas alterações nos resultados dos exames, te daremos algumas orientações e encaminharemos para os tratamentos necessários."

3) Informar que os laudos dos resultados dos exames serão anexados aos respectivos prontuários dos participantes;

Nos TALEs e TCLEs foi incluído o seguinte trecho: "Você receberá o resultado de cada exame auditivo realizado e ele também será incluído no seu prontuário do Hospital das Clínicas."

4) Informar que os termos seguem impressos em duas vias, uma que ficará em poder do participante, outro do pesquisador;

Foi acrescentado nos TALEs e TCLEs que o participante receberá uma via de igual teor do TCLE, rubricada e assinada pelo pesquisador responsável.

5) Esclarecer se irá utilizar dados dos prontuários dos participantes, em função da afirmativa presente no TALE (6-12 anos) "sempre saber o que está acontecendo com os dados que vamos usar do seu prontuário". Caso utilizar, informar que dados adicionais serão obtidos dos prontuários, informando também quais serão estes dados. Essa solicitação de usar dados do prontuário deverá estar em todos os documentos de TALE e TCLE.

Não serão utilizados dados dos prontuários dos participantes. A afirmativa foi retirada dos TCLEs e TALEs.

Os termos anteriormente anexados foram:

- Informações básicas do projeto;
- Parecer do Departamento de Fonoaudiologia devidamente assinado;
- TCLE para pais e responsáveis;
- TALE para participantes com idade entre 13 e 18 anos;
- TALE para participantes entre 6 e 12 anos;
- Parecer da Unidade Funcional (Gestão do Atendimento Ambulatorial HC/UFMG);
- Parecer da GEPE;
- Projeto de Pesquisa Completo;

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.662.575

-Folha de Rosto devidamente assinada.

**Recomendações:**

Não há recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Tendo em vista que todas as pendências levantadas por este CEP foram atendidas. Sou, SMJ, favorável a aprovação do projeto "AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA DE PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE BIOTINIDASE. Pesquisador Responsável: Patrícia Cotta Mancini.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1314775.pdf	04/10/2019 16:41:25		Aceito
Outros	Carta_Resposta_ao_CEP.pdf	04/10/2019 16:41:02	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_participantes_v2.docx	04/10/2019 16:38:21	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_pais_e_responsaveis_v2.docx	04/10/2019 16:38:06	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_13_a_18_anos_v2.docx	04/10/2019 16:37:52	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TALE_6_a_12_anos_v2.docx	04/10/2019 16:37:28	Patrícia Cotta Mancini	Aceito

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.662.575

Ausência	TALE_6_a_12_anos_v2.docx	04/10/2019 16:37:28	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parecer_Depfono_biotinidase.pdf	17/08/2019 15:29:46	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_pais_e_responsaveis.pdf	17/08/2019 15:29:04	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_13_a_18_anos.pdf	17/08/2019 15:28:56	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_6_a_12_anos.pdf	17/08/2019 15:28:46	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parecer_Unidade_Funcional.pdf	17/08/2019 15:28:32	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parecer_GEPE.pdf	17/08/2019 15:28:20	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Avaliacao_Audiologica_de_pessoas_co m_deficiencia_de_Biotinidase_v6.docx	17/08/2019 15:27:48	Patrícia Cotta Mancini	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	17/08/2019 15:18:48	Patrícia Cotta Mancini	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BELO HORIZONTE, 25 de Outubro de 2019

Assinado por:  
**Eliane Cristina de Freitas Rocha**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

## 8.2 Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE dos pais/responsáveis pelos participantes

1/2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA PAIS OU RESPONSÁVEIS)

**Título da pesquisa:** Avaliação audiológica de pessoas com deficiência da biotinidase

**Pesquisadores Responsáveis:** Dra. Ana Lúcia Pimenta Starling, Profa. Patrícia Mancini, Dr. Rodrigo Rezende Arantes e Dra. Elaine Alvarenga Carvalho de Almeida

Seu filho(a) \_\_\_\_\_

está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) de uma pesquisa intitulada “Avaliação audiológica de pessoas com deficiência da biotinidase”. O objetivo dessa pesquisa é avaliar a audição de recém-nascidos, lactentes, crianças e adultos com suspeita e com diagnóstico de deficiência de biotinidase triados pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais. Para isso, seu filho(a) passará por uma avaliação audiológica completa. Esta pesquisa não trará benefícios diretos para você ou seu filho(a), mas contribuirá para que possamos aprimorar nosso atendimento aos pacientes, melhorando a triagem e avaliação auditiva nas pessoas com suspeita ou diagnóstico da deficiência da biotinidase.

As avaliações já são realizadas rotineiramente, não causam dor e não são invasivas, e oferecem riscos mínimos tais como algum desconforto ou cansaço durante as avaliações. Caso você ou seu filho(a) sintam qualquer desconforto, você deverá avisar ao avaliador, pois ele se encarregará de interromper a avaliação e reagendá-la, ou eliminar os dados do seu filho(a), caso você queira retirar o consentimento em participar.

Caso você concorde que seu filho(a) participe da pesquisa, realizaremos os seguintes exames:

1) Meatoscopia, que veremos com uma fonte de luz como está o ouvido de seu filho(a) e se há algum impedimento à passagem do som;

2) Audiometria, que consiste na colocação de um fone e seu filho(a) ouvirá uns apitos dentro de uma cabine, devendo nos avisar quando ouvi-los, mesmo que sejam bem baixinhos. Depois vamos falar algumas palavras que também ficarão bem baixinhas, e seu filho(a) deverá repeti-las como entender. Esses apitos e palavras poderão ser apresentados em caixas de som também;

3) Imitanciométrie, que é um exame importante para ver como o som passa pelo ouvido, se tem alguma infecção ou impedimento. Colocaremos uma “borrachinha” em uma orelha e um fone na outra, e seu filho(a) irá ouvir uns apitos também. Neste exame seu filho(a) não precisa fazer nada, é só ficar com a cabeça parada. O exame é rápido, mas seu filho(a) poderá sentir uma momentânea pressão no ouvido, sem dor. Tentaremos fazer tudo bem rápido para evitar qualquer desconforto, mas caso seu filho(a) não goste de alguma coisa é só avisar o avaliador que a avaliação será interrompida no mesmo momento;

4) Emissões Otoacústicas, que é um teste para verificar se as pequenas células dentro do ouvido de seu filho(a) funcionam com a passagem do som. Neste exame será colocada uma “borrachinha” na entrada do ouvido e seu filho(a) ouvirá alguns sons, mas não precisará fazer nada;

5) Potencial Evocado Auditivo, no qual serão colocadas algumas pecinhas adesivas na testa e atrás das orelhas de seu filho(a), um fone nos ouvidos, e seu filho(a) escutará vários sons, mas também não precisará dar nenhuma resposta.

Os testes são realizados em 40 a 45 minutos e os riscos durante a avaliação são mínimos, evidenciados como algum desconforto ou cansaço durante a realização dos exames audiológicos; desconforto durante a colocação dos fones e da sonda na orelha, que contém a “borrachinha”. As avaliações serão realizadas na sua presença ou de outro familiar/acompanhante, da maneira como a criança se sentir mais confortável. Os avaliadores realizarão os exames da forma mais rápida possível para diminuir o tempo das avaliações e dos possíveis desconfortos gerados.

As anotações sobre os resultados dos exames serão mantidos em segredo de acordo com a Resolução 466/12 para realização de pesquisas. Os dados coletados serão armazenados pelo pesquisador responsável por um período de até cinco anos. Passado esse período, os dados e avaliações serão incinerados, como sugere as recomendações éticas. Em todas as anotações, seu filho(a) não será identificado(a) e seu nome será substituído por um número.

Rubrica do pai/responsável: \_\_\_\_\_ Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_

Seu filho(a) só participará dessa pesquisa se você quiser, e você poderá desistir da participação dele(a) a qualquer momento. Caso você concorde com a participação de seu filho(a) neste estudo, você não terá nenhum custo/despesa e também não receberá qualquer vantagem ou remuneração financeira. A participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade. Os resultados dos exames serão mantidos em segredo de acordo com a legislação atual. O nome da criança não será utilizado em nenhum relatório ou publicação neste estudo. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar o Comitê de Ética em pesquisa da UFMG – COEP/UFMG, situado à Av. Presidente Antonio Carlos 6627 – Unidade administrativa II, sala 2005. E-mail [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br); Telefone: 3409-4592. A qualquer tempo você poderá nos contatar para esclarecer quaisquer dúvidas ou retirar o seu consentimento. Nossos contatos encontram-se ao final desta página.

Para seu filho(a) ser incorporado a este estudo, você (pai/mãe ou responsável legal pela criança) deverá assinar o Termo de Consentimento, e também receberá uma via deste Termo assinada pelos pesquisadores responsáveis. O Sr(a) tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, independente do motivo e sem prejuízo do atendimento que seu filho(a) está recebendo.

Seu filho (a) realizará alguns exames minuciosos que avaliam a integridade e funcionamento das estruturas responsáveis pela audição e processamento do som que influenciam no desenvolvimento da linguagem. Você receberá uma via do resultado de cada exame auditivo realizado e outra via será incluída no prontuário de seu(a) filho(a) do Hospital das Clínicas. Caso sejam encontradas alterações nos resultados dos exames, serão oferecidas orientações e encaminhamentos para os tratamentos necessários.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pai/responsável pelo participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do acadêmico colaborador da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pela pesquisa

**Pesquisadores Responsáveis:**

Profa. Patrícia Cotta Mancini. Endereço: Av. Alfredo Balena, 190-sala 249 Santa Efigênia. Belo Horizonte – MG. CEP 30.130-100. Fone: 3409-9117 – E-mail: [patmancini@gmail.com](mailto:patmancini@gmail.com)

Dra. Ana Lúcia Pimenta Starling (31-3409-8908 - E-mail: [analustarling@gmail.com](mailto:analustarling@gmail.com))

Dr. Rodrigo Rezende Arantes (31-3409-8908 - E-mail: [rrarantes@hotmail.com](mailto:rrarantes@hotmail.com))

Dra. Elaine Alvarenga Carvalho de Almeida (31-3409-8908; E-mail: [elaineaac12@gmail.com](mailto:elaineaac12@gmail.com))

### 8.3 Anexo 3 – Anamnese Audiológica Infantil

**ANAMNESE AUDIOLÓGICA INFANTIL**

Prontuário: \_\_\_\_\_ Data do atendimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) M ( ) F Idade atual: \_\_\_\_\_  
 Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
 Cidade: \_\_\_\_\_ Endereço: \_\_\_\_\_

Origem do encaminhamento: \_\_\_\_\_  
 Exames solicitados: \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA ATUAL E PREGRESSA**

1) Queixa principal: \_\_\_\_\_

2) Intercorrência na gestação? \_\_\_\_\_

3) Escuta igual nas duas orelhas? ( ) Sim ( ) Não. **Se não**, qual orelha escuta menos? ( ) D ( ) E

4) Dificuldade para conversar em ambientes barulhentos? ( ) Sim ( ) Não

5) Antecedente familiar com problemas auditivos? ( ) Sim ( ) Não. **Se sim**, grau de parentesco: \_\_\_\_\_

Tipo de problema: \_\_\_\_\_ 6) Já sofreu traumatismo craniano? ( ) Sim ( ) Não

7) Já operou o ouvido? ( ) Sim ( ) Não. **Se sim**, qual ouvido? ( ) D ( ) E. Quando? \_\_\_\_\_

8) Já teve ou tem sensação de ouvido tampado, secreção e/ou excesso de cera no ouvido? ( ) Sim ( ) Não. **Se Sim**, qual ouvido? ( ) D ( ) E

9) Já teve ou tem zumbido? ( ) Sim ( ) Não. **Se sim**, qual orelha? ( ) D ( ) E

10) Tem ou teve alguma doença como sarampo, caxumba, meningite ou rubéola? ( ) Sim ( ) Não.

**Se sim**, quais? \_\_\_\_\_

11) Tem alguma alteração ou doença metabólica? ( ) Sim ( ) Não. **Se Sim**, quais? \_\_\_\_\_

12) Faz uso de medicamentos? ( ) Sim ( ) Não. **Se sim**, quais? \_\_\_\_\_

13) Apresenta alguma dificuldade em relação a: Fala → \_\_\_\_\_

Leitura: \_\_\_\_\_ Escrita: \_\_\_\_\_

Equilíbrio: \_\_\_\_\_

14) Nome da escola: \_\_\_\_\_ Ano escolar: \_\_\_\_\_

15) Teve ou tem dificuldades escolares? ( ) Sim ( ) Não

16) Faz algum tratamento? ( médico, psicopedagógico, fonoaudiológico, psicológico, por ex.). ( ) Sim ( ) Não

**Se sim**, qual motivo? \_\_\_\_\_

17) Tipo de comunicação utilizada: ( ) Verbal ( ) Libras ( ) Gestual informal ( ) LOF

Observação: \_\_\_\_\_ Exames realizados: \_\_\_\_\_

Conduta: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
**Profissional/Estagiária (o) responsável pelo atendimento**

## 8.4 Anexo 4 – Protocolo de percepção auditiva dos pais de crianças com DB

PROTOCOLO PERCEPÇÃO AUDITIVA DOS PAIS DE CRIANÇAS  
COM DEFICIÊNCIA DA BIOTINIDASE

DEFICIÊNCIA DA BIOTINIDASE	SAME / SUS:	
NOME:	D.N.:	Nome da Mãe:
ENDEREÇO:	TELEFONE:	DATA:

Histórico Geral

1. Idade gestacional:
2. Peso ao nascimento <1.500kg: ( ) sim ( ) não
3. Consanguinidade:
4. Permanência em incubadora > 7 dias: ( ) sim ( ) não
5. Ventilação mecânica > 5 dias: ( ) sim ( ) não
6. Permanência em UTIN: ( ) sim ( ) não
7. Anoxia neonatal: ( ) sim ( ) não
8. Convulsões neonatais: ( ) sim ( ) não
9. Malformação craniofacial: ( ) sim ( ) não
10. Trauma auditivo ou craniano : ( ) sim ( ) não Quando: \_\_\_\_\_
11. Data diagnóstico Deficiência da Biotinidase: \_\_\_\_\_
12. Uso de medicação ototóxica: ( ) sim ( ) não Qual: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_
13. Medicação de uso contínuo (Vitamina B7): \_\_\_\_\_
  - Desde : \_\_\_\_\_ meses/ anos.
  - Ajuste da dosagem: \_\_\_\_\_
  - Percebe alteração auditiva antes e após uso? \_\_\_\_\_
14. Teste da orelhinha: ( ) sim ( ) não Data: \_\_/\_\_/\_\_
 

Resultado: ( ) passou ( ) falhou

Reteste ( ) sim ( ) não Data: \_\_/\_\_/\_\_

Resultado: ( ) passou ( ) falhou

**0-24 meses**

I. Observação do comportamento auditivo:

- Seu filho tem atenção aos sons? ( ) sempre ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho reconhece a sua voz? ( ) sim ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho procura a fonte do som? ( ) sim ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho realiza localização lateral do som? ( ) sim ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado

II. Observação da Linguagem:

- Seu filho tem intenção comunicativa? ( ) sempre ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho possui boa interação com as pessoas? ( ) sempre ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho segue objetos ou algo em movimento com o olhar? ( ) sempre ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado
- Seu filho emite sons/ vocalizações (arrulhos)? ( ) sempre ( ) não ( ) às vezes ( ) não observado