

Reação em cadeia da polimerase –
transcriptase reversa (RT-PCR)
qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e
Hibridização in situ (ISH) para o
diagnóstico e monitoramento da
Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e da
Leucemia Linfoblástica Aguda cromossoma
Philadelphia positivo (LLA Ph+)

Nº 475

novembro/2019



medicamento

RELATÓRIO DE RECOMENDAÇÃO





2019 Ministério da Saúde.

Elaboração, distribuição e informações:

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde

Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde

Coordenação de Monitoramento e Avaliação de Tecnologias em Saúde

Esplanada dos Ministérios, bloco G, Edifício Sede, 8º andar

CEP: 70058-900 – Brasília/DF

Tel: (61) 3315-2848

Site: <http://Conitec.gov.br/>

E-mail: Conitec@saude.gov.br

Elaboração de relatório técnico

COORDENAÇÃO DE MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO E DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE–
CMATS/CGGTS/DGITIS/SCTIE/MS

Elaboração de Estudos

UNIDADE DE AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE - UATS DO HOSPITAL ALEMÃO

OSWALDO CRUZ - HAOC

Haliton Alves de Oliveira Junior

Revisão Técnica

Edison Vieira de Melo Junior

Clementina Corah Lucas Prado

Supervisão

Clementina Corah Lucas Prado

Vânia Cristina Canuto Santos



CONTEXTO

Em 28 de abril de 2011, foi publicada a Lei nº 12.401 que dispõe sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologias em saúde no âmbito do SUS. Esta lei é um marco para o SUS, pois define os critérios e prazos para a incorporação de tecnologias no sistema público de saúde. Define, ainda, que o Ministério da Saúde, assessorado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias – CONITEC, tem como atribuições a incorporação, exclusão ou alteração de novos medicamentos, produtos e procedimentos, bem como a constituição ou alteração de protocolo clínico ou de diretriz terapêutica.

Tendo em vista maior agilidade, transparência e eficiência na análise dos processos de incorporação de tecnologias, a nova legislação fixa o prazo de 180 dias (prorrogáveis por mais 90 dias) para a tomada de decisão, bem como inclui a análise baseada em evidências, levando em consideração aspectos como eficácia, acurácia, efetividade e segurança da tecnologia, além da avaliação econômica comparativa dos benefícios e dos custos em relação às tecnologias já existentes.

A nova lei estabelece a exigência do registro prévio do produto na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para que este possa ser avaliado para a incorporação no SUS.

Para regulamentar a composição, as competências e o funcionamento da CONITEC foi publicado o Decreto nº 7.646 de 21 de dezembro de 2011. A estrutura de funcionamento da CONITEC é composta por dois fóruns: Plenário e Secretaria-Executiva.

O Plenário é o fórum responsável pela emissão de recomendações para assessorar o Ministério da Saúde na incorporação, exclusão ou alteração das tecnologias, no âmbito do SUS, na constituição ou alteração de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas e na atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), instituída pelo Decreto nº 7.508, de 28 de junho de 2011. É composto por treze membros, um representante de cada Secretaria do Ministério da Saúde – sendo o indicado pela Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) o presidente do Plenário – e um representante de cada uma das seguintes instituições: ANVISA, Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, Conselho Nacional de Saúde - CNS, Conselho Nacional de Secretários de Saúde - CONASS, Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde - CONASEMS e Conselho Federal de Medicina - CFM.

Cabem à Secretaria-Executiva – exercida pelo Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde (DGITS/SCTIE) – a gestão e a coordenação das atividades da CONITEC,



bem como a emissão deste relatório final sobre a tecnologia, que leva em consideração as evidências científicas, a avaliação econômica e o impacto da incorporação da tecnologia no SUS.

Todas as recomendações emitidas pelo Plenário são submetidas à consulta pública (CP) pelo prazo de 20 dias, exceto em casos de urgência da matéria, quando a CP terá prazo de 10 dias. As contribuições e sugestões da consulta pública são organizadas e inseridas ao relatório final da CONITEC, que, posteriormente, é encaminhado para o Secretário de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos para a tomada de decisão. O Secretário da SCTIE pode, ainda, solicitar a realização de audiência pública antes da sua decisão.

Para a garantia da disponibilização das tecnologias incorporadas no SUS, o decreto estipula um prazo de 180 dias para a efetivação de sua oferta à população brasileira.



Sumário

1. RESUMO EXECUTIVO.....	6
1. Apresentação	8
2. Tecnologias Avaliadas	10
2.1. Diagnóstico e monitoramento	10
2.2. Características técnicas	12
2.2.1. RT-PCR e RT-qPCR.....	13
2.2.2. ISH	14
2.3. Preço proposto para a incorporação.....	15
3. Bases de Dados e Estratégias de Busca.....	16
3.1. Pergunta de pesquisa.....	16
3.2. Estratégias de busca.....	16
3.3. Elegibilidade	17
4. Análise da evidência Apresentada pelo Demandante	18
4.1. Caracterização dos estudos.....	18
4.2. Descrição dos resultados de acurácia diagnóstica	20
5. Análise de Impacto orçamentário	28
5.1. Análise 1: Valores máximos de procedimento.....	29
Situação 1: Diagnóstico	29
Situação 2: Monitoramento	30
Análise 2: Valores mínimos de procedimento	32
Situação 1: Diagnóstico	32
Situação 2: Monitoramento	32
6. Recomendação de incorporação em outros países	34
7. Considerações finais.....	35
8. Recomendação.....	36
9. Recomendação preliminar da CONITEC:.....	38
10. Contribuições de Consulta pública.....	38
Contribuições sobre o documento.....	41
Avaliação global das contribuições	48
11. Recomendação final da Conitec:.....	48
12. Decisão	49
13. Referências.....	50



1. RESUMO EXECUTIVO

Tecnologia: Hibridização *in situ* (ISH), Reação em Cadeia da polimerase por transcriptase reversa qualitativa (RT-PCR) e Reação em Cadeia da polimerase por transcriptase reversa quantitativa (RT-qPCR).

Indicação: Diagnóstico (ISH e RT-PCR) e monitoramento (RT-qPCR) da Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e da Leucemia Linfoblástica Aguda – cromossoma Philadelphia + (LLA Ph+) em adultos e crianças/adolescentes.

Demandante: Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE/MS)

Contexto: O diagnóstico das leucemias Ph+ é feito pela demonstração da presença do cromossomo Philadelphia (22q-) com translocação t (9;22) (q34; q11) ou rearranjo BCR-ABL, identificado por citogenética (já disponível no SUS), ISH ou método molecular (RT-PCR), em pacientes com leucocitose (e ocasionalmente trombocitemia) persistente. Além disso, o Leukemianet recomenda que RT-qPCR seja utilizado no monitoramento do tratamento; nos casos de falha ou progressão da doença, para a detecção de mutações; e nos casos que requerem maior atenção.

Pergunta: Qual a acurácia diagnóstica da Reação em Cadeia da Polimerase – Transcriptase Reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e da Hibridização *in situ* (ISH) para o diagnóstico e monitoramento das leucemias Philadelphia positivo em adultos e crianças/adolescentes?

Evidências científicas: As bases Medline (via Pubmed) e Embase foram pesquisadas e onze estudos foram elegíveis para responder a pergunta de pesquisa. Esses estudos foram agrupados de acordo com os respectivos testes índice e referência. Nenhum dos estudos incluídos foi realizado em populações com suspeita de leucemias Ph+ (triagem). Todos os estudos incluem pacientes com diagnóstico confirmado de leucemias ou outras doenças hematológicas, proliferativas ou não, e avaliam a acurácia com base na detecção dos casos positivos (detecção do transcrito BCR-ABL) e negativos (doenças hematológicas não relacionadas ao BCR-ABL, leucemias Ph- ou indivíduos saudáveis). Alguns estudos inclusive avaliam a capacidade de detecção e quantificação de transcritos de um teste após a terapia com imatinibe, interferon ou transplante de medula óssea (TMO) (avaliação da resposta molecular). De modo geral, houve boa acurácia entre as técnicas de ISH e RT-PCR (quali e quantitativo), RT-qPCR e RT-PCR qualitativo, tipos diferentes de RT-PCR e RT-qPCR conduzido em amostras de sangue periférico e medula óssea (MO). A maioria dos resultados de sensibilidade e especificidade foi superior a 80%.

Avaliação de Impacto Orçamentário (AIO): O cenário simulado com o menor preço de mercado apresentou o menor impacto orçamentário. No contexto do diagnóstico, esses custos poderiam variar entre R\$ 1.313.872,46 e R\$ 2.920.036,56, a depender da combinação da frequência de uso das tecnologias, no período entre 2019 e 2023. No contexto do monitoramento, no qual apenas a técnica de RT-PCR quantitativo é utilizada, os valores variaram de R\$ 67.281.142,19, para 4 avaliações/ano, até R\$ 16.820.285,55, para uma avaliação/ano.

Experiência Internacional: As agências internacionais em ATS NICE e CADTH inserem esses testes diagnósticos dentro dos procedimentos de diagnóstico e monitoramento de leucemias,



definidos por diretrizes clínicas pouco específicas e amplas. No entanto, esses procedimentos já estão bem padronizados pela OMS e pela LeukemiaNet para o diagnóstico e monitoramento.

Considerações finais: O diagnóstico de leucemias Ph+ típica é simples e consiste em documentar, na presença de leucocitose persistente (ou ocasionalmente trombocitose), a presença da anormalidade cromossômica Filadélfia (Ph), o t (9; 22) (q34; q11), por citogenética de rotina, ou anormalidades moleculares BCR-ABL1 relacionadas ao Ph, por hibridização fluorescente in situ (FISH) ou por estudos moleculares. Estudos de acurácia diagnóstica evidenciam bons resultados de sensibilidade e especificidade para os testes ISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo). Ademais, um desses estudos mostra que existe boa correlação entre os resultados obtidos por RT-qPCR em amostras de sangue periférico e em MO. Os testes diagnósticos pleiteados nesse relatório eram anteriormente fornecidos aos pacientes com LMC e LLA Ph+ pelas empresas fabricantes dos inibidores de tirosinoquinase, fato que não acontece atualmente e que pode deixar os usuários sem a integralidade assistencial necessária. Esse relatório pleiteia, portanto, a ampliação do uso de ISH e RT-PCR para LMC e LLA Ph+, no âmbito do SUS, haja vista que, atualmente, esses procedimentos são fornecidos apenas para portadores de doenças raras, que não incluem as leucemias. A AIO mais atrativa considerou os menores valores praticados no mercado. No contexto do diagnóstico, houve variação entre R\$ 1.313.872,46 e R\$ 2.920.036,56, no período entre 2019 e 2013. No contexto do monitoramento, os valores variaram de R\$ 67.281.142,19, para 4 avaliações/ano, até R\$ 16.820.285,55, para uma avaliação/ano.

Recomendação preliminar da Conitec: A Conitec, em sua 78ª reunião ordinária, realizada no dia 05 e 06 de junho de 2019, recomendou a incorporação dos testes diagnósticos ISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo), para o diagnóstico e o monitoramento das leucemias Ph+ (LMC e LLA Ph+) em adultos e em crianças/adolescentes. A matéria foi disponibilizada para consulta pública.

Consulta pública: Foram apresentadas as características das 641 (seiscentas e quarenta e uma) contribuições recebidas, das quais 400 foram de experiência e opinião e 241 técnicas científicas. Do total de contribuições, 99% dos participantes concordaram totalmente com a recomendação preliminar da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde.

Recomendação final da Conitec: Os membros presentes deliberaram, por unanimidade, recomendar a incorporação, ao SUS, dos testes de reação em cadeia da polimerase – transcriptase reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e hibridização in situ (ISH) para o diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica (LMC) e da leucemia linfoblástica aguda cromossoma Philadelphia positivo (LLA Ph+). Foi assinado o Registro de Deliberação nº 464/2019.

Decisão: Incorporar a reação em cadeia da polimerase - transcriptase reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e hibridização in situ (ISH) para o diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica (LMC) e da leucemia linfoblástica aguda cromossoma Philadelphia positivo (LLA Ph+), no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS. Dada pela Portaria nº 57, publicada no Diário Oficial da União nº 224, seção 1, página 79, em 20 de novembro de 2019.



1. Apresentação

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal da célula precursora hematopoiética, associada a translocação cromossômica 9;22, que resulta na formação do cromossoma Philadelphia(1). A translocação do cromossoma 9 conduz à fusão entre a porção do gene BCR do cromossoma 22 e o segmento do gene ABL do cromossoma 9. Esse gene quimérico direciona a síntese de uma nova fosfoproteína com elevada atividade tirosinoquinase, responsável pela etiopatogenia da LMC(1). A LMC tipicamente progride em três fases: fase crônica (FC), fase acelerada ou de transformação (FT) e uma fase terminal denominada fase aguda ou blástica (FB).

Em crianças, a LMC é de ocorrência rara, representando menos do que 10% de todos os casos de LMC e menos de 3% de todas as leucemias na infância, com 0,7 casos/milhão/ano, na faixa etária entre 1 a 14 anos de idade. Essa incidência aumenta para 1,2/milhão/ano na adolescência(2). O diagnóstico é geralmente feito na idade entre 11 e 12 anos (variação de 1-18 anos), sendo que 10% dos casos encontram-se em fase avançada(2). Por causa da baixa incidência e das escassas publicações sobre LMC em crianças e adolescentes, a prática assistencial para o controle da LMC nesses grupos etários não está tão bem estabelecida como para os adultos. Entretanto, já existem diferenças entre pacientes adultos e aqueles em fase de crescimento, diferenças estas que podem afetar a evolução da LMC, a resposta ao tratamento e os eventos adversos provocados pelas diversas terapias. A proporção de pacientes pediátricos diagnosticados em fase avançada da doença (Fases de transformação e blástica) é maior do que nos adultos(3).

A LMC corresponde a 15% de todas as leucemias em pacientes adultos com mediana de idade de 67 anos. Nos Estados Unidos em 2017 foi estimado 8950 novos casos diagnosticados e cerca 1.080 mortes relacionadas à doença(4). No Brasil não há dados populacionais precisos, contudo, o INCA (Instituto Nacional de Câncer) estimou para 2018 10.800 novos casos de leucemias e, destes, cerca de 10% de LMC(5).

Após a introdução do inibidor da tirosinoquinase (ITQ), mesilato de imatinibe, há aproximadamente 15 anos, o tratamento da LMC mudou consideravelmente. Quanto ao surgimento de novos fármacos desta mesma classe, o dasatinibe tem se mostrado bem tolerado pelos adultos. Além disso, também está se tornando mais uma opção para o tratamento da LMC de crianças e adolescentes. A indicação de transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico (alo-TMO), único tratamento estabelecido como curativo, é agora, postergada pela



possibilidade terapêutica com os ITQs(3, 6-8). Isto é benéfico, pois nem todos os pacientes dispõem de doadores ou critérios para indicação do alo-TMO, como, por exemplo, ter atingido resposta molecular maior com os ITQs.

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma doença hematológica altamente agressiva, resultante da proliferação e expansão de explosões linfoides no sangue, medula óssea e outros órgãos (9). A LLA ocorre com uma distribuição bimodal, com um pico precoce nas crianças de 4 a 5 anos, seguido de um segundo pico aos 50 anos de idade (10), sendo que a incidência mundial é cerca de 1 a 4.75 / 100.000 indivíduos, com uma proporção homem:mulher de aproximadamente 1,3:1(9). A LLA cromossomo Filadélfia positivo (LLA Ph+) é uma variante biologicamente distinta de LLA, classificada pela Organização Mundial da Saúde como LLA com t (9; 22) (q34; q11.2); BCR-ABL1 (11, 12). LLA Ph+ representa cerca de 20% a 30% das LLA em adultos, e em 2% a 3% das LLA em crianças (13, 14).

A translocação t(9; 22) (q34; q11); BCR / ABL1 é historicamente associada a um mau prognóstico, sendo este o rearranjo mais frequente na LLA adulta. A incidência de t (9; 22) aumenta com a idade e está presente em 40% a 50% dos pacientes com mais de 60 anos. Os resultados clínicos em BCR / ABL1 + B-ALL melhoraram significativamente com a introdução dos inibidores de tirosinoquinase (ITQ) ABL em regimes terapêuticos (15). Quando tratados com quimioterapia isoladamente, os pacientes com LLA Ph+ apresentam um prognóstico ruim com poucos sobreviventes aos cinco anos após o tratamento (16-23). O transplante de células hematopoiéticas alogênicas (allo-TMO) proporciona melhores resultados, curando aproximadamente 30% a 60 % dos pacientes com LLA Ph+(19, 24-30). A utilização de inibidores da tirosinoquinase (ITQ) do BCR-ABL1 (imatinibe, dasatinibe, nilotinibe) no regime de tratamento vem resultando em taxas de resposta superiores, permitindo assim que mais pacientes procedam ao allo-TMO (31-35).



2. Tecnologias Avaliadas

2.1. Diagnóstico e monitoramento

As tecnologias aqui avaliadas foram pleiteadas durante a atualização das Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas (DDT) para LMC e LLA Ph+ em adultos e em crianças/adolescentes (ainda não publicadas).

De acordo com o consenso de especialistas envolvidos no desenvolvimento dessas DDTs, o diagnóstico é feito pela demonstração da presença do cromossomo Philadelphia (22q-) com presença de translocação t (9;22) (q34; q11) ou rearranjo BCR-ABL, identificado por citogenética, imuno-hibridização *in situ* (ISH) ou método molecular, em pacientes com leucocitose (e ocasionalmente trombocitemia) persistente.

Os exames necessários ao diagnóstico são:

- 1) Mielograma: mandatório para avaliação da morfologia, contagem de blastos e basófilos e determinação acurada da fase da doença;
- 2) Cariótipo: Para demonstração do cromossomo Philadelphia e avaliar presença de mutações cromossômicas adicionais; ou
- 3) RT-PCR: Recomendado para a identificação do tipo específico de rearranjo BCR-ABL ao diagnóstico, sendo este fundamental para o monitoramento do tratamento. Também possibilita diagnóstico em pacientes Philadelphia negativos; ou
- 4) ISH para BCR-ABL. Esse teste deve ser realizado quando não for possível estabelecer o diagnóstico por cariótipo ou RT-PCR.

Ademais, de acordo com as supracitadas DDTs e com o Leukemianet(36) o monitoramento citogenético e molecular deve acontecer de acordo com o exposto na **Tabela 1**.

Tabela 1: monitoramento citogenético e molecular da LMC

RECOMENDAÇÕES DE MONITORAMENTO	
Ao diagnóstico	Cariótipo (com mínimo 20 metáfases PH+); ou ISH; ou PCR qualitativo para definir tipo de transcrito
Durante o tratamento	PCR quantitativo a cada 3 meses até RMM, após a cada 3 a 6 meses Cariótipo aos 3, 6 e 12 meses até RCC, após a cada 12 meses



RECOMENDAÇÕES DE MONITORAMENTO	
Na falha ou progressão	PCR quantitativo, análise de mutação e cariótipo Imunofenotipagem em caso de crise blástica
Nos momentos de atenção	Repetir análise molecular e citogenética mais frequentemente Cariótipo em caso de alterações mielodisplásicas ou alterações citogenéticas adicionais em células Ph negativas

O diagnóstico de LLA Ph+ é estabelecido pela presença de 20% ou mais linfoblastos na medula óssea ou sangue periférico. Avaliação da morfologia, citometria de fluxo, imunofenotipagem e o teste citogenético são valiosos, tanto para confirmar o diagnóstico quanto para estratificação de risco.

A classificação da Organização Mundial de Saúde 2016 subclassificou as LLAs de acordo com a Tabela 2, sendo a LLA de células B com t(9;22)(q34;q11.2)[BCR-ABL1] descrita como um dos subtipos recorrentes.

Tabela 2 – Classificação da Organização Mundial da Saúde para Leucemia Linfoblástica Aguda (11, 12).

Classificação de Leucemia Linfoblástica Aguda ^a
Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B, sem outra especificação
Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B, com anormalidades genéticas recorrentes
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com hipodiploidia</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com hiperdiploidia</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com t(9;22)(q34;q11.2)[BCR-ABL1]</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com t(v11q23)[rearranjo MLL]</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com t(12;21)(p13;q22)[ETV6-RUNX1]</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com t(1;19)(q23;p13.3)[TCF3-PBX1]</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com t(5;14)(q31;q32)[IL3-IGH]</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com amplificação intracromossomal do cromossomo 21 (iAMP21) ^b</i>
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica de células B com translocações envolvendo tirosinoquinase ou receptores de citoquinas (BCR-ABL1) ^b</i>
Linfoma/ leucemia linfoblástica de células T
<i>Linfoma/ leucemia linfoblástica precoces precursoras de células T</i>

^a segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde de leucemias agudas e neoplasias mieloides revisada de 2016; ^b *provisional entidade*.

A avaliação diagnóstica da LLA Ph+ compreende:



- Citomorfologia (com citoquímica) por microscopia ótica do sangue periférico (SP) e medula óssea (MO);
- Biópsia de medula óssea com imuno-histoquímica, indicada em caso de aspirado medular “seco”;
- Citomorfologia do líquido;
- Imunofenotipagem das células blásticas do SP, MO ou líquido; e
- Identificação do cromossoma Philadelphia no SP ou na MO por exame de citogenética convencional ou ISH, ou da proteína BCR-ABL por exame de Biologia Molecular.

2.2. Características técnicas

As tecnologias avaliadas por esse relatório já se encontram incorporadas no Sistema Único de Saúde (SUS), no contexto das doenças raras, as quais não compreendem a LLA Ph+ e a LMC. Ademais, no SUS, os procedimentos de RT-PCR são utilizados atualmente para a quantificação de vírus HCV, HIV-1 e HTLV-1. Técnica de ISH é utilizada para a quantificação e ampliação do receptor de fator de crescimento epidérmico humano (HER-2). Portanto, o objeto desse relatório é a ampliação do uso das técnicas diagnósticas ISH, RT-PCR e RT-qPCR para LMC e LLA Ph+.

As tecnologias ISH, RT-PCR e RT-qPCR apresentam códigos específicos, na tabela do SIGTAP/SUS:

RT-PCR

- 02.02.10.008-1 - IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÃO/REARRANJOS POR PCR, PCR SENSÍVEL A METILAÇÃO, QPCR E QPCR SENSÍVEL A METILAÇÃO - valor ambulatorial total: R\$ 0,00;
- 0202030059 - DETECCAO DE RNA DO VIRUS DA HEPATITE C (QUALITATIVO) - Consiste na detecção do RNA viral, que é um marcador direto da infecção ativa por HCV, por meio das técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR). Utilizado no diagnóstico diferencial da hepatite auto-imune severa e hepatite c - Valor Ambulatorial Total: R\$ 96,00;
- 0202031071 - QUANTIFICACAO DE RNA DO HIV-1. Consiste na detecção do RNA viral, que é um marcador direto da infecção ativa por HIV-1, por meio das técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR). Utilizado na indicação e monitorização da terapia anti-retroviral - Valor Ambulatorial Total: R\$ 18,00;



- 0202031080 - QUANTIFICACAO DE RNA DO VIRUS DA HEPATITE C - Consiste na detecção do RNA viral, que é um marcador direto da infecção ativa por HCV, por meio das técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR). Valor Ambulatorial Total: R\$ 168,48;
- 0202031250 - DETECÇÃO DE RNA DO HTLV-1 - Ensaios moleculares do tipo PCR em tempo real, para a detecção de RNA viral e para confirmação de soropositividade para HTLV-1, em caso diagnosticado como leucemia/linfoma de células T do adulto - (ATL). Valor Ambulatorial Total: R\$ 65,00;
- 0213010011 - DETERMINACAO DE CARGA VIRAL DO HIV POR RT-PCR - Consiste na quantificação do ácido nucléico do HIV por meio das técnicas de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Utilizado na indicação e monitoramento da terapia anti-retroviral. Valor Ambulatorial Total: R\$ 00,00;
- 0213010186 - IDENTIFICACAO DE VIRUS DA RAIVA POR RT-PCR - 0213010194 - IDENTIFICACAO DO HANTAVIRUS POR RT-PCR (HANTAVIROSE). Valor Ambulatorial Total: R\$ 00,00;
- 0213010208 - IDENTIFICACAO DO VIRUS DA HEPATITE B POR PCR (QUANTITATIVO) - Consiste na quantificação do ácido nucléico do HBV por meio das técnicas de biologia molecular. Valor Ambulatorial Total: R\$ 00,00;

ISH/FISH

- 02.02.10.009-0 - FISH EM METÁFASE OU NÚCLEO INTERFÁSICO, POR DOENÇA - valor ambulatorial total: R\$ 0,00;
- 0202100049 - QUANTIFICAÇÃO/AMPLIFICAÇÃO DO HER-2 - Consiste da quantificação/amplificação do receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) por técnica molecular em amostra de câncer de mama em estágios I, II, III ou IV clínico ou patológico para confirmação de exame imuno-histoquímico com resultado de 2 cruces para o HER-2. Total Ambulatorial: R\$ 120,00.
- 02.13.01.067-4 - TESTE DE HIBRIDIZACAO IN SITU P/ IDENTIFICACAO DO VIRUS DA DENGUE – Valor ambulatorial total R\$ 0,00;

2.2.1. RT-PCR e RT-qPCR

RT-PCR é uma tecnologia pela qual as moléculas de RNA são convertidas em suas sequências complementares de DNA (cDNA) por transcriptases reversas, seguido pela amplificação do cDNA recém-sintetizado por procedimentos padrão de PCR. Esta abordagem para estudar a expressão gênica é universalmente conhecida como RT-PCR, devido ao papel da transcriptase reversa (RT) na síntese de cDNA de primeira cadeia. RT-PCR é um processo de duas etapas. Envolve a transcrição reversa de RNA purificado por transcriptase reversa, por meio de



um método apropriado para iniciação e amplificação de cDNA de primeira cadeia, utilizando alguma variante de PCR(37-39).

Além do estudo qualitativo da expressão gênica, RT-PCR pode ser utilizado para quantificação de RNA, tanto em termos relativos quanto absolutos, incorporando qPCR na técnica. A técnica combinada, descrita como RT-PCR quantitativa ou RT-PCR em tempo real (algumas vezes chamada RT-PCR quantitativa em tempo real), é frequentemente abreviada como qRT-PCR, RT-qPCR, ou RRT-PCR. Em comparação com outros métodos de quantificação de RNA, como o Northern blot, o RT-qPCR é considerado o ensaio mais sensível para a detecção de níveis de RNA. É frequentemente usado na análise de expressão de genes únicos ou múltiplos e padrões de expressão para identificar infecções e doenças(40-45).

As técnicas de RT-PCR e RT-qPCR estão descritas no SIGTAP como: “consiste na extração de DNA, seguida da amplificação da sequência de DNA de interesse por primers específicos, através da ação da enzima DNA polimerase, com visualização em gel após eletroforese (PCR clássico), ou diretamente pela dinâmica da reação de PCR (qPCR), podendo ser antecedida por tratamentos prévios que permitam verificação do estado de metilação (PCR sensível a metilação e QPCR sensível a metilação)¹.

2.2.2. ISH

A hibridização in situ (ISH) pode ser utilizada para testar a presença ou ausência de regiões específicas de cromossomos e é frequentemente utilizada para detectar pequenas deleções cromossômicas. Isso envolve o uso de uma sonda de DNA específica (probe) que reconhece a região a ser testada(46).

A análise de hibridização in situ de fluorescência (FISH) é realizada desnaturando o DNA de cadeia dupla nos cromossomos fixos numa lâmina de microscópio. Uma vez desnaturadas, duas sondas de DNA marcadas de maneira fluorescente são usadas em combinação para analisar cada local em questão. A primeira sonda serve como controle e hibridiza com o DNA no cromossomo alvo, mas fora da região-alvo. A segunda sonda hibridiza para um local de destino na sequência de DNA do indivíduo. Quando a sequência está presente, a sonda irá hibridizar e fluorescer com uma cor diferente da sonda de controle(47).

Quando uma deleção está presente, a segunda sonda não irá hibridizar e nenhuma fluorescência será vista. Uma duplicação resultará em dois pontos fluorescentes com a sonda de teste(47).

¹ Disponível no SIGTAP: <http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/procedimento/exibir/0202100081/09/2018>, Acesso em: 18/09/2018



A técnica de ISH está descrita no SIGTAP como: “técnica usada para verificar a presença ou ausência, o número de cópias e a localização cromossômica de uma sequência de DNA específica tanto nos cromossomos em metáfase quanto nas células em interfase”.

A principal dificuldade na adoção da técnica FISH (sigla em Inglês de hibridização in situ revelada por fluorescência) na rotina diagnóstica consiste no aparato instrumental necessário, indisponível rotineiramente em laboratórios de anatomia patológica: microscópios para epifluorescência, com objetivas de imersão 360x e 3.100x, filtros de fluorescência multibanda e câmara digital específica. Como forma de superar estas limitações práticas, a detecção de regiões gênicas específicas pode também ser feita por hibridização in situ cromogênica (acrônimo em inglês: CISH), técnica que não emprega equipamentos diferentes dos usados rotineiramente em imuno-histoquímica; por hibridização in situ melhorada pela prata (acrônimo em inglês: SISH), técnica totalmente automatizada que utiliza microscopia ótica e permite análise molecular tissular em 6 horas; ou DISH (Hibridização in situ com dupla coloração por cromógeno e pela prata). Os resultados obtidos com DISH podem ser interpretados da mesma forma que outros exames moleculares de hibridização in situ (FISH, CISH e SISH) para fins de autorização de terapia anti-HER2)².

Nenhuma marca específica de equipamento para a realização dos exames ISH, RT-PCR e RT-qPCR será discutida aqui, porque, de acordo com informações do Ministério da Saúde, esses exames são realizados, geralmente, em regime de comodato.

2.3. Preço proposto para a incorporação

As tecnologias acima descritas apresentam procedimentos e valores distintos, no contexto do SIGTAP/SUS. Abaixo relacionamos os procedimentos e valores praticados atualmente no SUS. Ademais, inserimos os menores valores de mercado de acordo com informações internas da Secretaria de Atenção Especializada à Saúde (SAES). Esses dados servirão de base para a análise de impacto orçamentário.

Tabela 3: Valores de custo para os procedimentos FISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo)

Tecnologia	Custo (R\$), SIGTAP	Valor mercado* (R\$)
FISH		
FISH em metáfase ou núcleo interfásico	0,00	76,02
Quantificação/amplificação do HER-2	120,00	NA
RT-PCR		
Pesquisa de cromossomo Filadélfia (Ph+) por RT-PCR	0,00	152,09
Deteção de RNA do vírus da hepatite C (qualitativo) (PCR)	96,00	NA
Quantificação de RNA do HIV-1 (PCR)	18,00	NA

² Informação interna à Secretaria de Atenção à Saúde do Ministério da Saúde.



Quantificação de RNA do vírus da hepatite C (PCR)	168,48	NA
Detecção de RNA do HTLV-1	65,00	NA

NA: Não se aplica. * Informações da Secretaria de Atenção Especializada à Saúde.

3. Bases de Dados e Estratégias de Busca

As buscas foram realizadas nas bases primárias de estudos MEDLINE, via Pubmed e Embase, detalhadas abaixo. O risco de viés dos estudos foi avaliado por meio da ferramenta QUADAS - 2(48). Apenas a conclusão desta avaliação foi reportada. Se o estudo apresentasse baixo risco de viés, significaria que não havia nenhum comprometimento do domínio avaliado pela respectiva ferramenta. Se o estudo apresentasse alto risco de viés, os domínios da ferramenta que estavam comprometidos eram explicitados.

3.1. Pergunta de pesquisa

O objetivo desse Parecer Técnico-Científico (PTC) é analisar as evidências científicas disponíveis sobre a acurácia diagnóstica dos testes ISH e RT-PCR (quali e quantitativo) para o diagnóstico e monitoramento da LMC e da LLA Ph+.

Para a sua elaboração, estabeleceu-se a seguinte pergunta de pesquisa, de acordo com o acrônimo PICO, cuja estruturação encontra-se no **Quadro 1**:

Quadro 1: Eixos norteadores para a elaboração da pergunta de pesquisa de acordo com acrônimo PICO.

População	Indivíduos com LMC e LLA Ph+
Intervenção	ISH, RT-PCR e RT-qPCR (como teste índice)
Comparador	ISH, cariótipo/citogenética, RT-PCR e RT-qPCR (como teste referência)
Desfechos (outcomes)	Sensibilidade, especificidade e demais medidas de acurácia diagnóstica eventualmente divulgadas

Pergunta de Pesquisa: Qual a acurácia diagnóstica da Reação em Cadeia da Polimerase – Transcriptase Reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e da Hibridização in situ (ISH) para o diagnóstico e monitoramento das leucemias Ph+ em adultos e crianças/adolescentes?

3.2. Estratégias de busca

MEDLINE (13/12/2018)

(((((("Leukemia, Myeloid, Chronic-Phase"[Mesh] OR "Leukemia, Myelogenous, Chronic, BCR-ABL Positive"[Mesh] OR Leukemia, Chronic Myelogenous OR Leukemia, Chronic Myeloid OR Leukemia, Myelocytic, Chronic OR Chronic Myelocytic Leukemia OR Chronic Myelogenous Leukemia OR Chronic Myeloid Leukemia))) OR ("Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-



Lymphoma"[Mesh] OR Acute Lymphoblastic Leukemia OR Leukemia, Lymphoblastic, Acute, Philadelphia-Positive OR Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia OR Acute Lymphocytic Leukemia))) AND (((("In Situ Hybridization, Fluorescence"[Mesh] OR Fluorescent in Situ Hybridization OR FISH Technic OR FISH Technics OR FISH Technique OR FISH Techniques)) OR ("Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction"[Mesh] OR Polymerase Chain Reaction, Reverse Transcriptase OR Reverse Transcriptase PCR OR PCR, Reverse Transcriptase OR Transcriptase PCR, Reverse))) AND ("Sensitivity and Specificity"[Mesh] OR Sensitivity OR Specificity)

Resultado: 480 referências

EMBASE (13/12/2018)

('chronic myeloid leukemia'/exp OR 'chronic myeloid leukemia' OR 'chronic myelogenous leukemia' OR 'chronic myelocytic leukemia'/exp OR 'chronic myelocytic leukemia') AND [embase]/lim

OR

('acute lymphoblastic leukemia'/exp/mj AND [embase]/lim OR acute) AND lymphoblastic AND leukemia AND philadelphia AND positive AND [embase]/lim

AND

('sensitivity and specificity'/exp OR 'sensitivity and specificity') AND [embase]/lim

AND

('fluorescence in situ hybridization'/exp OR 'fluorescence in situ hybridization' OR 'in situ hybridization'/exp OR 'in situ hybridization' OR 'fish'/exp OR 'fish') AND [embase]/lim

OR

('reverse transcription polymerase chain reaction'/exp OR 'reverse transcription polymerase chain reaction' OR 'rt-pcr'/exp OR 'rt-pcr' OR 'reverse transcriptase pcr' OR 'reverse transcriptase polymerase chain reaction'/exp OR 'reverse transcriptase polymerase chain reaction') AND [embase]/lim

Resultado: 89 referências

3.3. Elegibilidade

Foram recuperadas 569 referências por meio das estratégias de busca descritas acima (287 na Medline e 87 na Embase). Após a exclusão de 24 duplicatas, 545 referências foram triadas por meio da leitura de títulos e resumos. Dessas, 530 foram excluídas, restando 15



referências a serem analisadas por meio da leitura do texto completo. Após a leitura do texto completo, quatro referências foram excluídas, três por considerar as tecnologias avaliadas nesse relatório apenas como padrão e não como teste índice(49-51) e uma por incluir exame diferente dos propostos nesse relatório (*Flow-FISH*)(52). Sendo assim, 11 estudos de acurácia diagnóstica, para os quais valores de acurácia foram fornecidos ou eram passíveis de serem calculados, foram incluídos(53-63).

4. Análise da evidência Apresentada pelo Demandante

Esse Parecer Técnico Científico (PTC) foi elaborado em resposta à demanda para a incorporação dos exames diagnósticos ISH, RT-PCR e RT-qPCR para para o diagnóstico e o monitoramento das leucemias Ph+ no adulto e em crianças/adolescentes. A necessidade foi levantada em reunião de escopo realizada nos dias 13-14 de dezembro de 2016, com a presença de representantes dos grupos elaborador e gestor das DDTs de LMC e LLA Ph+.

4.1. Caracterização dos estudos

Onze estudos transversais de acurácia diagnóstica foram incluídos. Esses estudos avaliaram as tecnologias diagnósticas Hibridização *in situ* (ISH) e RT-PCR um em relação ao outro e, também, à citogenética convencional (**Tabela 3**).

O estudo de **Tong et al. 2018(60)** trata-se de um estudo transversal de acurácia diagnóstica. Esse estudo incluiu, inicialmente, 85 amostras de medula óssea de pacientes sabidamente BCR-ABL positivos, 31 amostras BCR-ABL negativas, 30 amostras de sangue periférico de pessoas com doenças infecciosas (BCR-ABL-negativos) e 32 amostras de sangue periférico de voluntários sadios (BCR-ABL negativos). Esse estudo comparou o RT-qPCR (quantitativo) versus o FISH, para a detecção da mutação BCR-ABL. Para tanto, foram incluídas 64 amostras aleatorizadas de indivíduos que teriam também resultados de FISH.

Ali et al. 2017(55) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que comparou a técnica FISH versus o RT-PCR, para o diagnóstico de LMC. Para isso, o estudo avaliou a sensibilidade e a especificidade dos métodos acima descritos em 87 pacientes adultos com LMC, 64% homens e com idade média (DP) de 37 (10) anos.

Moumen et al. 2015(62) avaliaram a acurácia diagnóstica dos métodos RT-PCR convencional, RT-qPCR e FISH, para a detecção de doença residual mínima (LMC), em 20 pacientes em uso de mesilato de imatinibe e pós-resposta citogenética completa. Dos 20 pacientes incluídos nessa análise, 10 eram do sexo masculino. Ademais, a duração média da



doença era de 3,3 anos e a média de idade era 51 anos. Os pacientes se apresentavam em fases distintas de evolução da doença, sendo que 13 estavam em fase crônica, 3 em fase aguda e 4 em fase blástica.

O estudo de **Savasoglu et al. 2015(57)** foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que avaliou a sensibilidade e a especificidade dos testes citogenético e FISH em relação ao RT-qPCR, em pacientes adultos com LMC em qualquer fase da doença. Esse estudo avaliou 177 amostras de medula óssea (MO) e sangue periférico.

Jobaggy et al. 2007(58) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que avaliou a sensibilidade e a especificidade de um teste múltiplo automático baseado em PCR (*cartridge-based Cepheid GeneXpert BCR-ABL Assay*) em relação ao RT-PCR manual (TaqMan). Esse estudo considerou o RT-PCR manual como referência. Foram analisadas 53 amostras de sangue periférico, sendo 13 delas controles negativos (5 doadores de medula óssea e 8 doenças hematológicas não relacionadas ao gene BCR-ABL), 39 LMC e 1 Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) Ph+.

Raanani et al. 2004(53) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que buscou avaliar a resposta molecular ao imatinibe e a taxa de remissão em pacientes adultos com LMC. Esse estudo avaliou a resposta molecular por meio da detecção de BCR-ABL pelos testes multiplex RT-PCR qualitativo, RT-qPCR (manual) e FISH. Foram analisadas amostras de sangue periférico de 21 pacientes com LMC. Esses pacientes eram, em sua maioria, homens, com média de idade de 51 anos e duração média da doença de 3,3 anos.

Lee et al. 2002(61) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que avaliou a sensibilidade e a especificidade do RT-qPCR versus o RT-PCR qualitativo (convencional), para a detecção do gene BCR-ABL. Esse estudo também avaliou o uso do RT-qPCR no monitoramento da resposta molecular ao imatinibe e ao interferon, porém esses resultados não são comparados a nenhum teste diagnóstico. Para a detecção de BCR-ABL, pelos dois métodos, foram avaliados 567 aspirados de MO de 470 pacientes (384 LMC, 35 LLA e 51 outras doenças hematológicas).

Pelz et al. 2002(59) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que avaliou a confiança e a sensibilidade da técnica FISH em relação à citogenética para a detecção da fusão BCR-ABL. Os resultados aqui apresentados se referem apenas à análise de validação do *cut-off*, pois os resultados de acurácia diagnóstica não foram divulgados para os 71 pacientes testados. Essa análise considerou 5 controles negativos (3 linfomas, 1 Leucemia Mieloide Aguda (LMA), 1 síndrome eosinofílica) e células NALM-1 Ph+, como controle positivo. Não foi informado o número de controles positivos.



Saffroy et al. 2000(63) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica que avaliou a sensibilidade e especificidade dos testes RT-qPCR versus RT-PCR convencional para a detecção de transcritos BCR-ABL. Para tanto, foram analisadas 186 amostras (111 de sangue periférico e 75 de MO) de 76 pacientes, sendo 50 homens e 26 mulheres. Dos 76, 32 apresentavam LMC, 20 LLA, 5 LMA, 12 síndrome mielodisplásica e 7 outras síndromes mieloproliferativas.

O estudo de **Kiss et al. 1998(56)** foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica, que buscou avaliar a capacidade de detecção de transcritos BCR-ABL em amostras de sangue periférico versus de medula óssea, por meio de RT-PCR. Esse estudo avaliou 163 amostras pareadas de sangue periférico ou de MO de 111 pacientes com LMC (91 pós TMO e 20 pós tratamento com interferon).

Cox et al. 1998(54) foi um estudo transversal de acurácia diagnóstica, que comparou as técnicas FISH e RT-PCR à citogenética convencional, para a detecção de transcrito BCR-ABL em pacientes com leucemias BCR-ABL positivas. Foram analisadas 75 amostras de medula óssea de 75 pacientes (30 LMC, 24 LLA, 12 trombocitemia essencial, 6 LMA, 2 leucemia mielomonocítica crônica, 1 policitemia vera).

4.2. Descrição dos resultados de acurácia diagnóstica

A seguir, os resultados de acurácia diagnóstica serão descritos por comparação (**Tabela 3**). Nenhum dos estudos incluídos foi realizado em populações com suspeita de leucemias Ph+ (triagem). Todos os estudos incluem pacientes com diagnóstico confirmado de leucemias ou outras doenças hematológicas, proliferativas ou não, e avaliam a acurácia com base na detecção dos casos positivos (detecção do transcrito BCR-ABL) e negativos (doenças hematológicas não relacionadas ao BCR-ABL, leucemias Ph- ou indivíduos saudáveis). Alguns estudos inclusive avaliam a capacidade de detecção e quantificação de transcritos de um teste após a terapia com imatinibe, interferon ou TMO (avaliação da resposta molecular).

FISH versus RT-PCR

Dois estudos avaliaram o teste FISH tendo como referência o RT-PCR(55, 57).

O estudo de **Ali et al. 2017** mostrou que o exame FISH tem uma sensibilidade de 97,6% e uma especificidade de 100% para a detecção de transcritos BCR-ABL em pacientes com LMC recém diagnosticados, em relação ao RT-PCR qualitativo.

O estudo de **Savasoglu et al. 2015**, no entanto, mostrou uma sensibilidade da técnica FISH de 22,5% e uma especificidade de 96% para a detecção de transcritos BCR-ABL em pacientes com LMC, no seguimento a longo prazo, em relação ao RT-qPCR.



Os resultados são discrepantes, provavelmente, devido ao fato de: 1) no estudo de **Ali et al. 2017**, o teste referência ser o RT-PCR qualitativo e no estudo de **Savasoglu et al. 2015** o teste referência ser o RT-PCR quantitativo; e 2) No estudo de **Savasoglu et al. 2015**, os testes são utilizados no seguimento a longo prazo, no qual, provavelmente, os pacientes encontram-se em tratamento, fazendo com que, nesse caso, o RT-qPCR, consiga detectar doença residual mínima, mas não o FISH. Uma terceira razão pode ser a diferença nas amostras analisadas ou inconformidades operacionais.

RT-PCR versus FISH

Três estudos avaliaram o teste RT-PCR tendo como referência o teste FISH(53, 60, 62). Esses estudos, em geral, mostraram elevada concordância entre RT-qPCR e FISH e superioridade do FISH em relação ao RT-PCR qualitativo convencional.

O estudo de **Tong et al. 2018**, realizado em pacientes recém diagnosticados com Leucemia positiva para BCR-ABL, mostrou sensibilidade e especificidade de 100% para o RT-qPCR em relação ao FISH. Cabe ressaltar que esses valores de sensibilidade e especificidade foram obtidos quando considerados níveis de expressão de BCR-ABL, respectivamente, > -6.572 e < -7.182 .

O estudo de **Mounen et al. 2015**, realizado em pacientes adultos com LMC, tratados com imatinibe e que atingiram resposta citogenética completa (CCyR), mostrou concordância de 100% entre os testes RT-qPCR e FISH, para a detecção de BCR-ABL. No entanto, considerando como teste índice o RT-PCR qualitativo, a sensibilidade foi de 66,7% e a especificidade foi de 100%, em relação ao FISH.

O estudo de **Raanani et al. 2004**, comparou o RT-PCR qualitativo multiplex com a técnica FISH, para a detecção de BCR-ABL. De acordo com os dados desse estudo, os valores de sensibilidade e especificidade do RT-PCR multiplex em relação ao FISH foram, respectivamente, de 81% e 85%. Os dados da comparação dentre RT-qPCR e FISH não foram exibidos, pois não foi possível calcular os valores de acurácia, devido ao fato de estes testes não terem sido conduzidos nas mesmas amostras.

RT-PCR qualitativo convencional versus RT-qPCR

Três estudos compararam o RT-PCR qualitativo em relação ao RT-qPCR (61-63). Esses estudos não deixaram claro qual das duas técnicas foi considerada como sendo a referência. Dessa forma, adotamos a técnica quantitativa como referência. Nenhum desses estudos forneceu valores de acurácia diagnóstica. Dessa forma, os valores exibidos aqui foram calculados



por nós. Exceto pelo estudo de **Moumen et al. 2015**, no geral os testes foram bem compatíveis, com valores de sensibilidade e especificidade superiores a 90%.

O estudo de **Lee et al. 2002** mostrou que os valores de sensibilidade e especificidade, para o RT-PCR qualitativo em relação ao RT-qPCR, foram, respectivamente, de 97,4% e 94,4%.

Já o estudo de **Saffroy et al. 2000**, mostrou valores de sensibilidade e especificidade de 100% e 91,9%, respectivamente, para a comparação RT-PCR qualitativo versus RT-qPCR.

O estudo de **Moumen et al. 2015** mostrou valores de sensibilidade e especificidade de 66,7% e 100%, respectivamente, para a comparação RT-PCR qualitativo versus RT-qPCR. Cabe ressaltar que esses valores foram calculados com base apenas nos 20 pacientes avaliados, excluindo-se os 10 controles negativos, que foram detectados adequadamente por todos os três testes utilizados nesse estudo (RT-PCR, RT-qPCR e FISH).

Diferentes RT-qPCR comparados entre si

O estudo de **Jobbagy et al. 2007** comparou a acurácia diagnóstica dos testes Cepheid gene expert (RT-qPCR *cartridge based* automatizado) versus um RT-qPCR manual (TaqMan). Esse estudo considerou o teste manual como referência. De acordo com esse estudo, o teste automatizado apresentou sensibilidade de 91,2% e especificidade de 94,7%, em relação à técnica manual. O estudo cita como vantagem do Gene expert o menor tempo de manuseio, incubação e resultado do teste (total de 2h e 30 minutos). Atualmente o Gene expert está sendo oferecido pelo SUS para o diagnóstico de tuberculose³.

RT-PCR qualitativo aplicado a amostras de sangue periférico versus medula óssea

Um estudo avaliou a acurácia do RT-PCR qualitativo quando aplicado a amostras de sangue periférico versus quando aplicado a amostras de medula óssea (MO)(56). Esse estudo considerou o RT-PCR aplicado à MO como referência. O RT-PCR em sangue periférico mostrou sensibilidade de 96,2% e especificidade de 89,5% em relação ao mesmo teste diagnóstico aplicado às amostras de MO. Ademais, os valores preditivos positivo e negativo foram de 93,8% e 92,7%, para o teste RT-PCR aplicado às amostras de sangue periférico em relação às de MO.

RT-PCR qualitativo versus citogenética convencional

³ Teste rápido para diagnosticar tuberculose será oferecido pelo SUS. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/noticias/saude/2013/03/teste-rapido-para-diagnosticar-tuberculose-sera-oferecido-no-sus>, acesso em: 12/09/2018.



Um estudo avaliou a acurácia diagnóstica, para a detecção de transcritos BCR-ABL, entre os testes RT-PCR qualitativo e citogenética(54). De acordo com esse estudo, em relação à citogenética, o RT-PCR apresentou uma sensibilidade de 97% e especificidade de 95%.

FISH versus citogenética

Dois estudos avaliaram a acurácia diagnóstica para a detecção de BCR-ABL pelas técnicas FISH e citogenética(54, 59). Em ambos os estudos a sensibilidade e a especificidade foram 100%, para o FISH em relação à citogenética. Cabe ressaltar que, no estudo de **Pelz et al.2002**, foram analisados apenas 5 controles sabidamente negativos (3 linfomas, 1 LMA, 1 síndrome eosinofílica) e células NALM-1 Ph+, como controle positivo. Dessa maneira, não pudemos apresentar resultados de acurácia diagnóstica para o teste FISH, nos 71 pacientes com LMC, LLA, LMA e desordens mieloproliferativas avaliados.



Tabela 4 – Características dos estudos e resultados de sensibilidade, especificidade e acurácia diagnóstica.

Autor, ano	População	Tamanho de amostra	Idade	Teste avaliado	Teste referência	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Risco de viés
Tong et al. 2018(60)	Pacientes recém diagnosticados Leucemia positiva para BCR-ABL, BCR-ABL negativo e controles sem leucemia	64 analisados (não descreve quantos são positivos e quantos são negativos)	NR	RT-qPCR multiplex	FISH	100% (para um nível de expressão de BCR-ABL > -6.572)	100% (para um nível de expressão de BCR-ABL < -7.182)	NR	Alto: Apesar de ter selecionado de forma aleatória os pacientes, já era sabido o status de positividade para BCR-ABL previamente. Os autores não citam quantos selecionados para os testes são positivos e negativos e nem mesmo o valor do nível de expressão (ponto de corte) definido para esses pacientes, fazendo que haja suspeita de exclusões indevidas. Não é possível saber se um teste foi realizado sem conhecimento dos resultados do outro. Não foi informado o intervalo de tempo entre os testes e nem todos os pacientes foram incluídos.
Ali et al. 2017(55)	Pacientes adultos com LMC recém diagnosticados de acordo com critérios clínicos e bioquímicos	87 pacientes, 56 (64%) homens.	37±10	FISH	RT-PCR	97,6%	100%	NR	Alto: foi citado que o teste RT-PCR foi considerado positivo quando o resultado fosse acima do limiar de detecção para a fusão do gene BCR-ABL, no entanto, o valor do limiar não foi divulgado. Não é possível saber se um teste foi realizado sem conhecimento dos resultados do outro. Não foi informado o intervalo de tempo entre os testes e nem todos os pacientes foram incluídos
Moumen et al. 2015(62)	Pacientes adultos com LMC tratados com imatinibe e que atingiram CCyR	20 pacientes (10 de cada sexo, duração média da doença de 3,3 anos, 13 em FC,	Média 51 anos (variação 23-72 anos).	Convencional RT-PCR	FISH RT-qPCR	Conv vs. FISH: 66,7%* Conv vs. RT-qPCR: 66,7%* FISH e RT-qPCR foram 100% compatíveis	Conv vs. FISH: 100%* Conv vs. RT-qPCR: 100%* FISH e RT-qPCR foram 100% compatíveis	NR	Alto: Pacientes não consecutivos/não amostrados de forma aleatória; Não é possível saber se um teste foi realizado sem conhecimento dos resultados do outro. Não foi informado o intervalo de tempo entre os testes e nem todos os pacientes foram incluídos.



Autor, ano	População	Tamanho de amostra	Idade	Teste avaliado	Teste referência	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Risco de viés
		4 em FA e 3 em FB).							
Savasoglu et al. 2015 (57)	Pacientes adultos (>18anos) com LMC	177 amostras	NR	FISH e cariotipagem	RT-PCR quantitativo	FISH vs. RT-PCR: 22,5% (p=0,064) Cariotipagem vs. RT-PCR: 17,6% (p=0,118)	FISH vs. RT-PCR: 96% (p>0,05) Cariotipagem vs. RT-PCR: 98% (p>0,05)	FISH (referência RT-PCR): 0,578 (p=0,118) Cariotipagem (referência RT-PCR): 0,593 (p=0,064) Cariotipagem (referência FISH): 0,856 (p<0,001)	Alto: Dados registrados em banco de dados (aberto), diagnóstico conhecido
Jobbagy et al. 2007(58)	Amostras de sangue periférico de 39 pacientes com LMC, LLA Ph+	40 amostras	NR	Cepheid GeneXpert BCR-ABL Assay (Array PCR)	Manual RT-PCR	91,2%	94,7%	NR	Alto: Não há como saber se os pacientes são consecutivos ou amostrados de forma aleatória; Não é possível saber se um teste foi realizado sem conhecimento dos resultados do outro. Não foi informado o intervalo de tempo entre os testes.
Raanani et al. 2004 (53)	Pacientes com LMC em uso de imatinibe	24 pacientes (17 em fase crônica, 4 em fase acelerada e 3 em crise blástica), 15 homens, 3,3 anos de duração média da LMC	51 (23–72)	RT-PCR multiplex	FISH	RT-PCR multiplex vs. FISH: 85% RT-PCR quantitativo vs. FISH: não determinado pois não foram realizados ambos os testes nas mesmas amostras	RT-PCR multiplex vs. FISH: 81% RT-PCR quantitativo vs. FISH: não determinado pois não foram realizados ambos os testes nas mesmas amostras	NR	Alto: Nem todas as amostras foram submetidas aos dois testes. Foram utilizados equipamentos diferentes de análise para a realização do teste FISH.
Lee et al. 2002(61)	470 pacientes (384 LMC, 35 LLA e 51 outras doenças hematológicas)	567 aspirados de MO de 470 pacientes (557 analisados)	NR	RT-PCR convencional	RT-qPCR	97,4%*	94,4%*	NR	Alto: Não é possível saber se um teste foi realizado sem conhecimento dos resultados do outro. Não foi informado o intervalo de tempo entre os testes.



Autor, ano	População	Tamanho de amostra	Idade	Teste avaliado	Teste referência	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Risco de viés
Pelz et al. 2002(59)**	5 controles sabidamente negativos (3 linfomas, 1 LMA, 1 síndrome eosinofílica) e células NALM-1 Ph+, como controle positivo	5 controles negativos. Número de controles positivos não informado	NR	FISH	Citogenética convencional	100%	100%	NR	Alto: casos positivos e negativos definidos a priori. Não é possível saber se um teste foi feito sem o conhecimento do resultado do outro. Não foi informado o tempo de intervalo entre os testes.
Saffroy et al. 2000(63)	76 pacientes (50 homens e 26 mulheres), 32 LMC, 20 LLA, 5 LMA, 12 síndrome mielodisplásica e 7 outras síndromes mieloproliferativas	186 amostras (111 de sangue periférico e 75 de MO)	NR	RT-PCR convencional	RT-qPCR	100%*	91,9%*	NR	Alto: Não é possível saber se um teste foi feito sem o conhecimento do resultado do outro. Amostras coletadas em tempos diferentes, algumas relativas ao diagnóstico e outras ao seguimento pós terapia com interferon ou TMO.
Kiss et al. 1999(56)	111 pacientes com LMC (91 pós TMO e 20 pós tratamento com interferon)	163 amostras pareadas de sangue periférico ou de MO de 111 pacientes com LMC	NR	RT-PCR sangue periférico	RT-PCR MO	96,2%	89,5%	NA	Incerto: O estudo cita que as análises foram feitas de forma paralela nas amostras de sangue periférico e de MO, porém não é possível saber se um teste foi feito sem o conhecimento do resultado do outro.
Cox et al. 1998(54)	75 pacientes (30 LMC, 24 LLA, 12 trombocitemia essencial, 6 LMA, 2 leucemia mielomonocítica crônica, 1 policitemia vera)	75 amostras de MO de 75 pacientes	NR	FISH RT-PCR	Citogenética convencional	100% 97%	100% 95%	NA	Alto: Pacientes não foram excluídos, mas nem todos apresentaram amostras capazes de serem analisadas para citogenética convencional e RT-PCR. Os pacientes foram consecutivos e, aparentemente, os testes também, mas não há como ter certeza. Não é possível saber se um teste foi feito sem o conhecimento do resultado do outro



LMC: Leucemia mielóide crônica; RT-PCR: *reverse transcription polimerase chain reaction*; FISH: *Fluorescence in situ hybridization*; NR: não reportado. Quando não especificado, dados foram apresentados em mediana (valor mínimo – valor máximo); RT-qPCR: *reverse transcription quantitative polimerase chain reaction*. *Resultados calculados a partir de dados fornecidos pelos autores. **Resultados apresentados apenas para a análise de validação do *cut-off*, pois os resultados de acurácia diagnóstica não foram divulgados para os 71 pacientes testados.



5. Análise de Impacto orçamentário

A análise do impacto Orçamentário (AIO) considerou um horizonte temporal de cinco anos (2019 a 2023) e a perspectiva do SUS.

As tecnologias avaliadas apresentam procedimentos e valores distintos, no contexto do SIGTAP. De acordo com os valores praticados, os quais foram expostos na seção “preço proposto para incorporação”, consideramos então duas análises de impacto orçamentário distintas: 1) com os valores máximos de procedimento (ISH: R\$ 120,00; RT-PCR: 168,48); e 2) com valores mínimos de procedimento, de acordo com os valores de mercado (ISH: 76,02; RT-PCR: 152,09) (TABELA 5).

Tabela 5: Valores de custo para os procedimentos FISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo)

Tecnologia	Custo (R\$), SIGTAP	Valor mercado (R\$)
FISH		
FISH em metáfase ou núcleo interfásico	0,00	76,02
Quantificação/amplificação do HER-2	120,00	NA
RT-PCR		
Pesquisa de cromossomo Filadélfia (Ph+) por RT-PCR	0,00	152,09
Quantificação de RNA do vírus da hepatite C (PCR)	168,48	NA

NA: Não se aplica

Os dados da população brasileira a cada ano, de 2019 a 2023, foram estimados de acordo com informações de projeção do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)(64).

Dados sobre a população atualmente vivendo com leucemias no Brasil foram obtidos do Sistema de Informações ambulatoriais do DATASUS/MS (SIA). De acordo com os dados do SIA, 12.567 indivíduos receberam 105.009 procedimentos de quimioterapia para LMC em 2017 (ano mais recente com dados completos disponível). Não foi encontrado nenhum registro para a quimioterapia de LLA Ph+ no ano de 2017. Sendo assim, foi considerada uma população elegível 12.567 indivíduos. Portanto, esse valor será usado como valor base inicial, ao qual serão adicionados novos casos, ano a ano.

Não estão publicados dados de estatísticas de frequência de leucemias pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), com nível de estratificação necessários para serem utilizados nessa AIO. De acordo com *National Institutes for Health Surveillance, epidemiology and end Results Program* (NIH/SEER), os valores de incidência e mortalidade para LMC e LLA, para o período de 2011 a 2015, ajustado pela idade, são bem similares (incidência: 1,8 e 1,7 casos /100.000 habitantes, respectivamente; e mortalidade: 0,3 e 0,4 casos em 100.000 habitantes, respectivamente)(65, 66). Dessa forma, consideraremos a incidência ajustada pela idade de 1,8 casos a cada 100.000 habitantes e a mortalidade de 0,3 casos a cada 100.000 habitantes(65).



Para cada uma das AIO, consideraremos duas situações: 1) uso de FISH e RT-PCR qualitativo para diagnóstico de leucemias Ph+; 2) Uso de RT-qPCR na população com leucemia Ph+ estabelecida, como forma de monitorar o tratamento.

Na situação 1, apenas casos novos serão considerados em quatro cenários: 1) 30% dos pacientes realizarão FISH, 30% dos pacientes realizarão RT-PCR e o restante citogenética convencional; 2) 50% FISH e 50% RT-PCR; 3) 100% FISH; e 4) 100% RT-PCR. É importante ressaltar que, na condição de diagnóstico, um dos exames poderá ser realizado:

- 1) Citogenética convencional; ou
- 2) FISH; ou
- 3) RT-PCR qualitativo.

Na situação 2, os casos de LMC existentes no início de 2019 serão considerados em quatro cenários: 1) RT-qPCR 4 vezes ao ano; 2) RT-qPCR 3 vezes ao ano; 3) RT-qPCR 2 vezes ao ano; e 4) RT-qPCR uma vez ao ano. De acordo com as DDTs de LMC, LLA Ph+ (No prelo) e com o leukemianet(36), durante o tratamento são indicadas avaliações por RT-qPCR a cada três meses, até a resposta molecular maior. Depois disso, as avaliações com RT-qPCR podem ser aplicadas nos meses 3, 6 e 12 até a resposta citogenética completa (RCC) e, daí em diante, a cada 12 meses. Como não temos como prever quando a RCC vai acontecer, propomos esses quatro cenários diferentes na situação 2, como uma análise de sensibilidade. Cabe ressaltar que, na condição de monitoramento dos pacientes com LMC ou LLA Ph+, o exame indicado é o RT-PCR quantitativo, haja vista a necessidade de quantificação da mutações.

5.1. Análise 1: Valores máximos de procedimento

Para a AIO 1, as estimativas de impacto orçamentário se encontram nas **Tabelas 6 e 7**.

Situação 1: Diagnóstico

Considerando o diagnóstico, o cenário com menor impacto orçamentário seria aquele em que o ISH e o RT-PCR qualitativo fossem utilizados em 30% dos pacientes, com um gasto total de R\$ 1.661.592,77, no período entre 2019 e 2023. O cenário, no qual as duas tecnologias são utilizadas por 50% dos participantes, geraria um impacto orçamentário de R\$ 2.769.321,28, sendo mais oneroso que o cenário com 100% de diagnóstico realizado por meio da técnica ISH (R\$ 2.303.927,85). O cenário com maior impacto orçamentário seria aquele no qual 100% dos pacientes fossem diagnosticados por meio da técnica RT-PCR qualitativo, com um gasto total em cinco anos de R\$3.234.714,70 (**Tabela 6**).



Situação 2: Monitoramento

Os cenários de monitoramento consideram, além dos casos novos de leucemia, aqueles já existentes, de acordo com volume de atendimentos registrados no SIA. Sendo assim, em relação ao diagnóstico, o monitoramento é mais oneroso. Se o paciente passar por quatro avaliações por RT-qPCR anuais, o custo total em cinco anos será de R\$ 74.531.703,84. O custo total em cinco anos seria de R\$ 55.898.777,88, R\$ 37.265.851,92 e R\$ 18.632.925,96, respectivamente para monitorização realizada 3, 2 e 1 vez ao ano (**Tabela 7**).



Tabela 6: Estimativa de impacto orçamentário para ISH e RT-PCR qualitativo para o diagnóstico de leucemias Ph+ (2019-2023)

Ano	População geral (N)	Casos novos (N)	Custo cenário 1 (R\$)	Custo cenário 2 (R\$)	Custo cenário 3 (R\$)	Custo cenário 4 (R\$)
2019	210.147.125	3.783	327.365,51	545.609,18	453.917,79	637.300,58
2020	211.755.692	3.812	329.871,32	549.785,54	457.392,29	642.178,78
2021	213.317.639	3.840	332.304,51	553.840,85	460.766,10	646.915,60
2022	214.828.540	3.867	334.658,18	557.763,63	464.029,65	651.497,62
2023	216.584.269	3.899	337.393,24	562.322,07	467.822,02	656.822,12
Total			1.661.592,77	2.769.321,28	2.303.927,85	3.234.714,70

Tabela 7: Estimativa de impacto orçamentário com o uso de RT-qPCR para o monitoramento do tratamento em leucemias Ph+ (2019-2023)

Ano	População geral (N)	Casos existentes no início 2018*	Casos novos (N)	Mortes (N)	Elegível/ano (N)	RT-PCR 4x/dia (R\$)	RT-PCR 3x/ano (R\$)	RT-PCR 2x/ano (R\$)	RT-PCR 1x/ano (R\$)
2019	210.147.125	12.567	3.783	630	15.719	10.593.487,90	7.945.115,92	5.296.743,95	2.648.371,97
2020	211.755.692		3.812	635	18.896	12.734.083,84	9.550.562,88	6.367.041,92	3.183.520,96
2021	213.317.639		3.840	640	22.095	14.890.469,19	11.167.851,89	7.445.234,59	3.722.617,30
2022	214.828.540		3.867	644	25.318	17.062.127,93	12.796.595,95	8.531.063,97	4.265.531,98
2023	216.584.269		3.899	650	28.566	19.251.534,99	14.438.651,24	9.625.767,49	4.812.883,75
Total						74.531.703,84	55.898.777,88	37.265.851,92	18.632.925,96

*2017 foi o último ano completo com dados disponíveis no Sistema de Informações Ambulatoriais (SIA).



Análise 2: Valores mínimos de procedimento

Para a AIO 2, as estimativas de impacto orçamentário se encontram nas **Tabelas 8 e 9**.

Situação 1: Diagnóstico

Considerando o diagnóstico, o cenário no qual ISH e o RT-PCR qualitativo fossem utilizados em 30% dos pacientes apresentou um gasto total de R\$ 1.313.872,46, no período entre 2019 e 2023. O cenário, no qual as duas tecnologias são utilizadas por 50% dos participantes, geraria um impacto orçamentário de R\$ 2.189.787,43. O cenário com 100% de diagnóstico realizado por meio da técnica ISH custaria R\$ 1.459.538,29. O cenário com 100% dos pacientes diagnosticados por meio da técnica RT-PCR qualitativo apresentou um gasto total em cinco anos de R\$ 2.920.036,56 (**Tabela 8**).

Situação 2: Monitoramento

Os cenários de monitoramento consideram, além dos casos novos de leucemia, aqueles já existentes, de acordo com volume de atendimentos registrados no SIA. Sendo assim, em relação ao diagnóstico, o monitoramento é mais oneroso. Se o paciente passar por quatro avaliações por RT-qPCR anuais, o custo total em cinco anos será de R\$ 67.281.142,19. O custo total em cinco anos seria de R\$ 50.460.856,65, R\$ 33.640.571,10 e R\$ 16.820.285,55, respectivamente para monitorização realizada 3, 2 e 1 vez ao ano (**Tabela 9**).



Tabela 8: Estimativa de impacto orçamentário para ISH e RT-PCR qualitativo para o diagnóstico de leucemias Ph+ (2019-2023)

Ano	População geral (N)	Casos novos (N)	Custo cenário 1 (R\$)	Custo cenário 2 (R\$)	Custo cenário 3 (R\$)	Custo cenário 4 (R\$)
2019	210.147.125	3.783	258.857,97	431.429,95	287.556,92	575.302,97
2020	211.755.692	3.812	260.839,39	434.732,32	289.758,02	579.706,62
2021	213.317.639	3.840	262.763,39	437.938,98	291.895,32	583.982,63
2022	214.828.540	3.867	264.624,51	441.040,84	293.962,78	588.118,91
2023	216.584.269	3.899	266.787,20	444.645,34	296.365,25	592.925,43
Total			1.313.872,46	2.189.787,43	1.459.538,29	2.920.036,56

Tabela 9: Estimativa de impacto orçamentário com o uso de RT-qPCR para o monitoramento do tratamento em leucemias Ph+ (2019-2023)

Ano	População geral (N)	Casos existentes no início 2018*	Casos novos (N)	Mortes (N)	Elegível/ano (N)	RT-PCR 4x/dia (R\$)	RT-PCR 3x/ano (R\$)	RT-PCR 2x/ano (R\$)	RT-PCR 1x/ano (R\$)
2019	210.147.125	12.567	3.783	630	15.719	9.562.936,69	7.172.202,52	4.781.468,35	2.390.734,17
2020	211.755.692		3.812	635	18.896	11.495.292,09	8.621.469,06	5.747.646,04	2.873.823,02
2021	213.317.639		3.840	640	22.095	13.441.900,87	10.081.425,65	6.720.950,43	3.360.475,22
2022	214.828.540		3.867	644	25.318	15.402.297,23	11.551.722,92	7.701.148,61	3.850.574,31
2023	216.584.269		3.899	650	28.566	17.378.715,32	13.034.036,49	8.689.357,66	4.344.678,83
Total						67.281.142,19	50.460.856,65	33.640.571,10	16.820.285,55

*2017 foi o último ano completo com dados disponíveis no Sistema de Informações Ambulatoriais (SIA).



Baseado na média de mercado encontrada, acreditamos que AIO 1 seja mais representativa da realidade clínica praticada.

6. Recomendação de incorporação em outros países

Os sites das agências internacionais em ATS *National Institute for Health and Care Excellence (NICE)* e *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH)* foram pesquisados quanto à publicações relativas ao diagnóstico e monitoramento da LMC.

No NICE, duas publicações foram encontradas (NG47 e QS150)⁴. No Guia clínico NG 47, quando citometria de fluxo, diagnósticos moleculares ou citogenética são necessários para a monitorização da doença, os laboratórios de diagnóstico locais devem enviar todos os espécimes diretamente para um SIHMDS (*Specialist Integrated Haematological Malignancy Diagnostic Services*) sem nenhum diagnóstico local. No padrão de qualidade 150 é citado um relato integrado sobre os pacientes, no qual são relatadas as técnicas FISH e genética molecular (PCR). Não foi encontrado nenhum estudo de ATS específico para as técnicas FISH e RT-PCR.

No CADTH foram encontradas duas publicações avaliando testes moleculares para identificação de mutações em leucemias⁵. Um deles avaliou o Sequenciamento fluorescente Sanger (RT-PCR qualitativo) para análises de mutações BCR-ABL, considerou o teste como estabelecido para função analisada e recomendou a incorporação do teste. A outra publicação, avaliou a genotipagem por *killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR)* PCR para doenças do sangue, entre elas a LMC. Esse teste não obteve parecer favorável, sendo recomendada a sua reavaliação.

É importante esclarecer que esses testes estão consolidados para o diagnóstico e monitoramento da LMC, tanto pela OMS(67) quanto pela LeukemiaNet(36).

⁴ National Institute for Health and Clinical excellence (NICE). Haematological cancers: improving Outcomes (NG47). Disponível em: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng47/resources/haematological-cancers-improving-outcomes-pdf-1837457868229>. Acesso em: 24/09/2018. Haematological cancers (QS150). Disponível em: <https://www.nice.org.uk/guidance/qs150/resources/haematological-cancers-pdf-75545533256389>. Acesso em: 24/09/2018

⁵ Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. MUTATION ANALYSIS OF THE KINASE DOMAIN OF THE BCR-ABL FUSION PROTEIN (REFERENCE – 2014.02.002). Disponível em: https://www.cadth.ca/sites/default/files/pdf/lab-tests/04_Mutation_Analysis_of_Kinase.pdf. Acesso em: 24/09/2018. Kir Genotyping Using Polymerase Chain Reaction (PCR) (Reference – 2013.02.007). Disponível em: https://www.cadth.ca/sites/default/files/pdf/lab-tests/08_Kir_Genotyping_Using_PCR_e.pdf. Acesso em: 24/09/2018.



7. Considerações finais

Central na patogênese da LMC é a fusão do gene ABL1, no cromossomo 9, com o gene da região do ponto de interrupção (BCR) no cromossomo 22. Isso resulta na expressão de uma oncoproteína denominada BCR-ABL1(68). BCR-ABL1 é uma tirosinoquinase constitutivamente ativa que promove o crescimento e a replicação através de vias a jusante como RAS, RAF, JUN quinase, MYC e STAT(69-75). Isto influencia a leucemogênese por meio da criação de um ciclo celular independente de citocina com sinais apoptóticos aberrantes em resposta a retirada de citocinas(76).

O diagnóstico de LMC típica é simples e consiste em documentar, na presença de leucocitose persistente (ou ocasionalmente trombocitose), a presença da anormalidade cromossômica Filadélfia (Ph), o t (9; 22) (q34; q11), por citogenética de rotina, ou anormalidades moleculares BCR-ABL1 relacionadas ao Ph, por hibridização fluorescente in situ (FISH) ou por estudos moleculares (77-79).

Uma análise ISH baseia-se na co-localização de grandes sondas genômicas específicas para os genes BCR e ABL. A comparação de amostras simultâneas de medula e sangue pela análise de ISH mostra alta concordância. A reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) amplifica a região em torno da junção de união entre BCR e ABL1. É altamente sensível na detecção de doença residual mínima. O teste de PCR pode ser qualitativo, fornecendo informações sobre a presença do transcrito BCR-ABL1 ou quantitativo, avaliando a quantidade de transcritos BCR-ABL1. A PCR qualitativa é útil para diagnosticar a LMC; A PCR quantitativa é ideal para monitorar a doença residual (76).

Estudos que avaliaram as tecnologias foram conduzidos em pacientes com LMC já diagnosticados(53-63). Todos os estudos incluem pacientes com diagnóstico confirmado de leucemias ou outras doenças hematológicas, proliferativas ou não, e avaliam a acurácia com base na detecção dos casos positivos (detecção do transcrito BCR-ABL) e negativos (doenças hematológicas não relacionadas ao BCR-ABL, leucemias Ph- ou indivíduos saudáveis). Alguns estudos inclusive avaliam a capacidade de detecção e quantificação de transcritos de um teste após a terapia com imatinibe, interferon ou TMO (avaliação da resposta molecular).

De modo geral, houve boa acurácia entre FISH e RT-PCR (quali e quantitativo), RT-qPCR e RT-PCR qualitativo, tipos diferentes de RT-PCR e RT-PCR conduzido em amostras de sangue periférico e MO. A maioria dos resultados de sensibilidade e especificidade foi superior a 80% (53-63).



As agências internacionais em ATS NICE e CADTH inserem esses testes diagnósticos dentro dos procedimentos de diagnóstico e monitoramento de leucemias, definidos por diretrizes clínicas pouco específicas e amplas. No entanto, esses procedimentos já estão bem padronizados pela OMS(67) e pela LeukemiaNet(36) para o diagnóstico e monitoramento da LMC.

Um fator importante é que, anteriormente, esses procedimentos eram financiados pelas indústrias fabricantes dos inibidores de tirosinoquinase (imatinibe, dasatinibe e nilotinibe) utilizados para o tratamento da LMC⁶. Agora já não o são, deixando os pacientes que dependem dessas tecnologias desguarnecidos. Dessa forma, com base em toda a evidência disponível, o objeto desse relatório é a ampliação do uso de RT-PCR (quali e quantitativo) e ISH, que atualmente são incorporados apenas para as doenças raras.

De acordo com a análise de impacto orçamentário, o cenário simulado com o menor preço de mercado apresentou o menor impacto orçamentário. No contexto do diagnóstico, esses custos poderiam variar entre R\$ 1.313.872,46 e R\$ 2.920.036,56, a depender da combinação da frequência de uso das tecnologias, no período entre 2019 e 2023. No contexto do monitoramento, no qual apenas a técnica de RT-PCR quantitativo é utilizada, os valores variaram de R\$ 67.281.142,19, para 4 avaliações/ano, até R\$ 16.820.285,55, para uma avaliação/ano.

8. Recomendação

Recomenda-se a incorporação dos testes diagnósticos ISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo), para o diagnóstico e o monitoramento das leucemias Ph+ (LMC e LLA Ph+) em adultos e em crianças/adolescentes.

O diagnóstico da LMC é feito pela demonstração da presença do cromossomo Philadelphia (22q) com presença de translocação t (9;22) (q34; q11) ou rearranjo BCR-ABL, identificado por citogenética ou FISH ou método molecular, em pacientes com leucocitose (e ocasionalmente trombocitemia) persistente.

Os exames necessários ao diagnóstico são:

- 1) Mielograma: mandatório para avaliação da morfologia, contagem de blastos e basófilos e determinação acurada da fase da doença;

⁶ Informação dada pelo Ministério da Saúde.



2) Cariótipo: Para demonstração do cromossomo Philadelphia e avaliar presença de mutações cromossômicas adicionais;

3) RT-PCR qualitativo: Recomendado para a identificação do tipo específico de rearranjo BCR-ABL ao diagnóstico, sendo este fundamental para o monitoramento do tratamento (RT-qPCR). Também possibilita diagnóstico em pacientes Philadelphia negativos;

Hibridização in situ para BCR-ABL deve ser realizado quando não for possível estabelecer o diagnóstico por cariótipo ou RT-PCR.

A monitorização laboratorial da LMC pode ser descrita conforme esquema descrito no quadro abaixo:

Quadro 2 – Monitoramento laboratorial do tratamento da leucemia mieloide crônica com o imatinibe. Adaptado de Leukemia net 2013(36)).

RECOMENDAÇÕES DE MONITORAMENTO	
Ao diagnóstico	Cariótipo (com mínimo 20 metáfases PH+) PCR qualitativo para definir tipo de transcrito
Durante o tratamento	PCR quantitativo a cada 3 meses até RMM, após a cada 3 a 6 meses Cariótipo aos 3, 6 e 12 meses até RCC, após a cada 12 meses
Na falha ou progressão	PCR quantitativo, análise de mutação e cariótipo Imunofenotipagem em caso de crise blástica
Nos momentos de atenção	Repetir análise molecular e citogenética mais frequentemente Cariótipo em caso de alterações mielodisplásicas ou alterações citogenéticas adicionais em células Ph negativas

PCR: reação em cadeia da polimerase; RMM: resposta molecular maior; RCC: Resposta Citogenética Completa.

O diagnóstico de LLA Ph+ é estabelecido pela presença de 20% ou mais linfoblastos na medula óssea ou sangue periférico. Avaliação da morfologia, citometria de fluxo, imunofenotipagem e o teste citogenético são valiosos, tanto para confirmar o diagnóstico quanto para estratificação de risco.

A avaliação diagnóstica da LLA Ph+ compreende:



- Citomorfologia (com citoquímica) por microscopia ótica do sangue periférico (SP) e medula óssea (MO);
- Biópsia de medula óssea com imuno-histoquímica, indicada em caso de aspirado medular “seco”;
- Citomorfologia do líquido;
- Imunofenotipagem das células blásticas do SP, MO ou líquido; e
- Identificação do cromossoma Philadelphia no SP ou na MO por exame de citogenética convencional ou ISH ou da proteína BCR-ABL por exame de Biologia Molecular.

9. Recomendação preliminar da CONITEC:

Ante o exposto, a Conitec, em sua 78ª reunião ordinária, realizada no dia 05 e 06 de junho de 2019, recomendou a incorporação dos testes diagnósticos ISH e RT-PCR (qualitativo e quantitativo), para o diagnóstico e o monitoramento das leucemias Ph+ (LMC e LLA Ph+) em adultos e em crianças/adolescentes.

A matéria foi disponibilizada para consulta pública.

10. Contribuições de Consulta pública

A Consulta Pública nº 38/2019 foi realizada entre os dias 24/07/2019 a 12/08/2019. Foram recebidas 641 contribuições, sendo 400 delas provenientes do formulário de experiência e opinião e 241 relativas às contribuições técnicas.

Experiência e Opinião

As contribuições obtidas por meio do relatório de experiência e opinião foram, em sua maioria, realizadas por pessoa física N = 397 (99,2%). Essas contribuições foram provenientes de profissional da saúde 132 (33%), pacientes 92 (23%), pessoas interessadas no tema 92 (23%) e de familiar, amigo ou cuidador de paciente 81 (21%) (**Figura 1**).



Figura 1: Gráfico com a frequência absoluta e relativa das contribuições feitas por pessoa física obtidas por meio do relatório de experiência e opinião

Já as contribuições advindas de pessoa jurídica (N=3) foram feitas por Grupos/associação/organização de pacientes (N=2) e por representações de Instituição de Saúde (N=1).

Contribuições técnicas

As contribuições obtidas por meio do relatório técnico, em sua maioria, realizadas por pessoa física N = 233 (97%). As contribuições técnicas advindas de pessoa física foram provenientes de profissional da saúde 210 (90,1%), pacientes 4 (0,02%), pessoas interessadas no tema 14 (0,06%) e de familiar, amigo ou cuidador de paciente 5 (0,02%) (Figura 2).

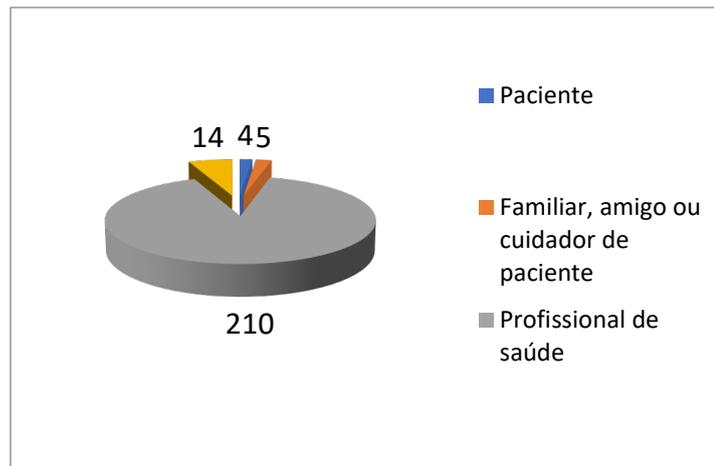


Figura 2: GRÁFICO COM A FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DAS CONTRIBUIÇÕES FEITAS POR PESSOA FÍSICA OBTIDAS POR MEIO DO RELATÓRIO técnico

Já as contribuições advindas de pessoa jurídica (N=8) foram feitas por Grupos/associação/organização de pacientes (N=1); por representações de Instituição de Saúde (N=2), por empresa (N=1), por instituição de ensino (N=2) e por uma Secretaria Estadual de Saúde (N=1). Uma contribuição de pessoa jurídica foi realizada, mas não se enquadrou em nenhuma das classificações acima (Outras).

Independentemente do formulário utilizado, foram consideradas apenas as contribuições encaminhadas no período estipulado e por meio do site da CONITEC, em formulário próprio.

As características dos participantes foram quantificadas e estratificadas de acordo com os respectivos formulários. As contribuições foram quantitativamente e qualitativamente avaliadas, considerando as seguintes etapas: a) leitura de todas as contribuições, b) identificação e categorização das ideias centrais, e c) discussão acerca das contribuições. A seguir, é apresentado um resumo da análise das contribuições recebidas. O conteúdo integral das contribuições se encontra disponível na página da CONITEC (<http://conitec.gov.br/index.php/consultas-publicas>).



Contribuições sobre o documento

Perfil dos participantes

Independentemente do formulário utilizado, a maioria das contribuições partiu de pessoa física (99% para o relatório de experiência e opinião e 97% para o relatório de contribuições técnicas). A maioria era branca e do sexo feminino, residentes na região sudeste do país e com idade superior aos 25 anos.

Formulário de Experiência e opinião

Do total das contribuições, 36% ficou sabendo da consulta pública por meio de amigos, colegas ou profissionais de trabalho, 34% por meio de redes sociais, 18% por meio de associações/entidades de classe, 5% por e-mail, 4% site da CONITEC, 4% por outros meios e 1% pelo Diário Oficial da União (D.O.U). As características dos participantes da consulta pública, por meio do formulário de Experiência e Opinião, podem ser vistas nas **Tabelas 1 e 2** a seguir.

Tabela 10: Contribuições da Consulta Pública nº [38/2019], advindas do formulário de Experiência e Opinião, de acordo com a origem.

Característica	Número absoluto (%)
Pessoa física	397 (99)
Paciente	92 (23)
Familiar, amigo ou cuidador de paciente	81 (21)
Profissional de saúde	132 (33)
Interessado no tema	92 (23)
Pessoa jurídica	3 (1)
Grupos/associação/organização de pacientes	2 (67)
Instituição de Saúde	1 (33)



Tabela 11: Características demográficas de todos os participantes da Consulta Pública nº [38/2019], advindas do formulário de Experiência e Opinião.

Característica	Número absoluto (%)
Sexo	
Feminino	280 (71)
Masculino	117 (29)
Cor ou Etnia	
Amarelo	6 (2)
Branco	286 (72)
Indígena	1 (<1)
Pardo	90 (23)
Preto	14 (4)
Faixa etária	
0 a 17 anos	2 (1)
18 a 24 anos	16 (4)
25 a 39 anos	180 (45)
40 a 59 anos	161 (41)
60 anos ou mais	38 (10)
Regiões Brasileiras	
Norte	15 (4)
Nordeste	64 (16)
Sul	105 (26)
Sudeste	185 (46)
Centro-Oeste	31 (8)

Formulário de Contribuições Técnicas

Do total das contribuições técnicas, 46% ficou sabendo da consulta pública por meio de amigos, colegas ou profissionais de trabalho, 12% por meio de redes sociais, 14% por meio de associações/entidades de classe, 18% por e-mail, 10% site da CONITEC, 1% por outros meios e <1% pelo Diário oficial da União (D.O.U). As características dos participantes da consulta pública, por meio do formulário de contribuições técnicas, podem ser vistas nas **Tabelas 3 e 4** a seguir.



Tabela 12: Contribuições da Consulta Pública nº [38/2019], por meio do formulário de contribuições técnicas, de acordo com a origem.

Característica	Número absoluto (%)
Pessoa física	233 (97)
Paciente	4 (<1)
Familiar, amigo ou cuidador de paciente	5 (<1)
Profissional de saúde	210 (90)
Interessado no tema	14 (<1)
Pessoa jurídica	8 (3)
Grupos/associação/organização de pacientes	1 (12,5)
Empresa	1 (12,5)
Secretaria Estadual de Saúde	1 (12,5)
Instituição de Saúde	2 (25)
Instituição de ensino	2 (25)
Outra	1 (12,5)

Tabela 13: Características demográficas de todos os participantes da Consulta Pública nº [38/2019], advindas por meio do formulário de contribuições técnicas.

Característica	Número absoluto (%)
Sexo	
Feminino	159 (68)
Masculino	74 (32)
Cor ou Etnia	
Amarelo	3 (1)
Branco	174 (75)
Indígena	0
Pardo	52 (22)
Preto	4 (2)
Faixa etária	
0 a 17 anos	0
18 a 24 anos	2 (1)
25 a 39 anos	106 (45)
40 a 59 anos	98 (42)
60 anos ou mais	27 (12)
Regiões Brasileiras	
Norte	6 (2)
Nordeste	74 (31)
Sul	50 (21)
Sudeste	104 (43)
Centro-Oeste	7 (3)



Avaliação geral da recomendação preliminar da CONITEC

Relatório de Experiência e Opinião

Das quatrocentas opiniões fornecidas, 395 (99%) concordaram totalmente com a recomendação preliminar da CONITEC, 3 (<1%) concordaram parcialmente e 2 (<1%) discordaram totalmente.

Para aqueles que concordaram totalmente, as justificativas estavam relacionadas, majoritariamente, ao fato do ganho em acesso à tecnologia, ao uso racional dos inibidores de tirosinoquinase e, também, devido à importância do exame de RT-PCR para o diagnóstico e monitoramento das leucemias:

“o PCR para bcr-abl é fundamental para diagnóstico e acompanhamento de pacientes com LMC e LLA Ph, guia totalmente o tratamento e é um critério para indicação de transplante de medula óssea”

“Hoje tenho que esperar ser chamada via voucher do Laboratório que fabrica a medicação, faz mais de 7 meses que não realizo o exame e ele particular além de caro necessito viajar 500km para fazer a coleta! Se tornando insustentável!”

“exames extremamente necessários para auxiliar no diagnóstico e avaliação de resposta ao tratamento medicamentoso já disponibilizado pelo SUS, racionalizando o seu uso. Como exame sensível também dá informações precoces sobre mudança de rumo da doença, ganhando tempo na mudança de tratamento.



Não faz sentido ter disponíveis medicamentos caros sem os exames necessários para auxiliar no seu uso mais adequado”.

Para as avaliações, nas quais os usuários concordaram parcialmente ou discordaram não houve justificativa reportada.

Relatório de contribuições técnicas

Das 241 opiniões fornecidas, 239 (99%) concordaram totalmente com a recomendação preliminar da CONITEC e 2 (1%) concordaram parcialmente.

Da mesma forma que para as contribuições de experiência e opinião, aqueles que concordaram totalmente justificaram a opinião devido a importância dos testes para o correto diagnóstico e monitoramento do indivíduo com LMC ou LLA Ph+, além de ressaltarem que essa prática leva ao uso racional dos inibidores de tirosinoquinase:

“Testes completamente necessários para diagnóstico devido, escolha de tratamento, monitoramento da resposta ao tratamento e direcionamento para possíveis trocas, implicando de forma direta na evolução da doença”

“A monitorização do BCR/ABL por PCR é parte FUNDAMENTAL do tratamento e acompanhamento dos pacientes com LMC e LLA Ph. A monitorização regular, inicialmente a cada 3 meses permite verificar a necessidade precoce de troca da medicação quando não estiver havendo resposta adequada. Isso se traduz em um melhor tratamento para o paciente e economia do



sistema público de saúde, evitando administrar medicamentos que não são os mais adequados”.

Dentre aqueles que concordaram totalmente, cinco enviaram arquivos para respaldar a justificativa. Dos cinco arquivos enviados, um estava corrompido. Os demais quatro estão descritos abaixo.

A Novartis enviou uma carta, corroborando a decisão da CONITEC:

“...Diante do exposto, a Novartis concorda totalmente com a recomendação preliminar da CONITEC a favor da incorporação do exame RT-qPCR para o monitoramento da LMC, uma vez que a disponibilidade desse instrumento, realizado em laboratório padronizado na escala internacional, é fundamental para que o acompanhamento do tratamento forneça parâmetros adequados de avaliação para oferecer a melhor terapia e o melhor desfecho possível aos pacientes, principalmente na redução de chances de progressão da doença”.

Um profissional de saúde anexou um artigo que fala sobre a economicidade de se fornecer os testes avaliados no presente relatório:

“Those who were more frequently monitored incurred lower medical service costs, with the majority of the difference in costs being related to disease progression”.

Outra profissional de saúde anexou os critérios da Leukemianet que recomendam a utilização dos testes aqui avaliados. Ressaltamos que o texto do PCDT foi atualizado e já considera as recomendações da LeukemiaNet.



Além desses, um outro profissional de saúde anexou as recomendações da Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Sociedade Brasileira de Patologia e Sociedade Brasileira de Pediatria, e aquelas da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*. Essas publicações todas corroboram com a recomendação preliminar da CONITEC.

Do total das contribuições técnicas, duas concordaram parcialmente com a recomendação preliminar da CONITEC.

Uma delas discorreu sobre os casos nos quais a medicação não é efetiva. No entanto, tal opinião não deixa claro qual seria a influência de tal situação diante da aprovação das tecnologias em análise:

“Como o casos comprovados de que a medicação não é efetiva em situações de manifestação avançada”.

A outra contribuição discorreu sobre o possível não registro das tecnologias para FISH no país, argumentando que o impacto orçamentário calculado está abaixo daquilo que é gasto normalmente com a monitorização das leucemias:

“Foi constatado que as duas empresas responsáveis pela venda de sondas para FISH (Agilent e CITOGEM) não apresentam seus produtos registrados na ANVISA”.

“No entanto, após uma análise detalhada dos custos, concluímos que para nenhum dos métodos (seja FISH ou qRT-PCR) foi possível atingir o valor proposto na consulta pública”.

Nesse sentido, cabe ressaltar que o PTC exposto ao plenário da CONITEC e colocado em consulta pública não considerou apenas FISH, mas sim a metodologia de hibridização in situ, independentemente da abordagem. Ademais, cabe ressaltar que os valores aplicados por planos de saúde e pelo SUS foram considerados. Dessa forma, se existem valores sendo executados,



pressupõe-se a existência e adequado registro das tecnologias. Ademais, a prevalência de pacientes com a condição inserida na análise de impacto orçamentário, foi obtido do DATASUS, a partir dos procedimentos de quimioterapia, sendo esse dado relevante para o contexto nacional.

Avaliação global das contribuições

Após apreciação das contribuições encaminhadas pela Consulta Pública, o plenário aprovou, em unanimidade, a incorporação dos testes reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) e hibridização *in situ* (ISH) na 81ª Reunião da Plenária, em 04 de setembro de 2019.

11. Recomendação final da Conitec

Os membros presentes deliberaram, por unanimidade, recomendar a incorporação, ao SUS, dos testes de reação em cadeia da polimerase – transcriptase reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e hibridização *in situ* (ISH) para o diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica (LMC) e da leucemia linfoblástica aguda cromossoma Philadelphia positivo (LLA Ph+). Foi assinado o Registro de Deliberação nº 464/2019.



12. Decisão

PORTARIA Nº 57, DE 18 DE NOVEMBRO DE 2019

Torna pública a decisão de incorporar a reação em cadeia da polimerase - transcriptase reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e hibridização in situ (ISH) para o diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica (LMC) e da leucemia linfoblástica aguda cromossoma Philadelphia positivo (LLA Ph+), no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Ref.: 25000.114530/2019-83, 0012256656.

O SECRETÁRIO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E INSUMOS ESTRATÉGICOS EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, no uso de suas atribuições legais e, nos termos dos arts. 20 e 23 do Decreto 7.646, de 21 de dezembro de 2011, resolve:

Art. 1º Incorporar a reação em cadeia da polimerase - transcriptase reversa (RT-PCR) qualitativa e quantitativa (RT-qPCR) e hibridização in situ (ISH) para o diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica (LMC) e da leucemia linfoblástica aguda cromossoma Philadelphia positivo (LLA Ph+), no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Art. 2º Conforme determina o art. 25 do Decreto 7.646/2011, o prazo máximo para efetivar a oferta ao SUS é de cento e oitenta dias.

Art. 3º O relatório de recomendação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec) sobre essa tecnologia estará disponível no endereço eletrônico: <http://conitec.gov.br/>.

Art. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

DENIZAR VIANNA ARAUJO



13. Referências

1. R. H. Hematology - Basic Principles and Practice. . 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2013.
2. Suttorp M, Millot F. Treatment of pediatric chronic myeloid leukemia in the year 2010: use of tyrosine kinase inhibitors and stem-cell transplantation. Hematology American Society of Hematology Education Program. 2010;2010:368-76.
3. Hijya N, Schultz KR, Metzler M, Millot F, Suttorp M. Pediatric chronic myeloid leukemia is a unique disease that requires a different approach. Blood. 2016;127(4):392-9.
4. SEER NCI. Cancer Stat Facts: Leukemia - Chronic Myeloid Leukemia (CML) 2017 [Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmly.html>].
5. INCA INdC. Leucemia 2018 [Available from: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao+>].
6. Aplenc R, Blaney SM, Strauss LC, Balis FM, Shusterman S, Ingle AM, et al. Pediatric phase I trial and pharmacokinetic study of dasatinib: a report from the children's oncology group phase I consortium. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2011;29(7):839-44.
7. Gore L, Kearns P, Lee ML, Souza CAD, Bertrand Y, Hijya N, et al. Phase II trial of dasatinib (DAS) in pediatric patients (pts) with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP). Journal of Clinical Oncology. 2017;35(15_suppl):10511-.
8. Zwaan CM, Rizzari C, Mechinaud F, Lancaster DL, Lehrnbecher T, van der Velden VH, et al. Dasatinib in children and adolescents with relapsed or refractory leukemia: results of the CA180-018 phase I dose-escalation study of the Innovative Therapies for Children with Cancer Consortium. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2013;31(19):2460-8.
9. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2011;29(5):532-43.
10. Fullmer A, O'Brien S, Kantarjian H, Jabbour E. Emerging therapy for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. Expert opinion on emerging drugs. 2010;15(1):1-11.
11. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375-90.
12. Arber DA OA, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;217:2391-405.



13. Jones LK, Saha V. Philadelphia positive acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *British journal of haematology*. 2005;130(4):489-500.
14. Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, Richards SM, Secker-Walker LM, Martineau M, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007;109(8):3189-97.
15. Schultz KR, Carroll A, Heerema NA, Bowman WP, Aledo A, Slayton WB, et al. Long-term follow-up of imatinib in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Children's Oncology Group study AALL0031. *Leukemia*. 2014;28(7):1467-71.
16. Larson RA DR, Bloomfield CD, Schiffer CA. Treatment of biologically determined subsets of acute lymphoblastic leukemia in adults: Cancer and Leukemia Group B studies. In: Springer-Verlag B, editor. *Acute Leukemias VI: Prognostic factors and treatment strategies*, Buchner T, Hiddeman W, Wormann B, et al (Eds)1997. p. 677.
17. Linker CA, Levitt LJ, O'Donnell M, Forman SJ, Ries CA. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia with intensive cyclical chemotherapy: a follow-up report. *Blood*. 1991;78(11):2814-22.
18. Larson RA, Dodge RK, Burns CP, Lee EJ, Stone RM, Schulman P, et al. A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia group B study 8811. *Blood*. 1995;85(8):2025-37.
19. Gaynor J, Chapman D, Little C, McKenzie S, Miller W, Andreeff M, et al. A cause-specific hazard rate analysis of prognostic factors among 199 adults with acute lymphoblastic leukemia: the Memorial Hospital experience since 1969. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1988;6(6):1014-30.
20. Dombret H, Gabert J, Boiron JM, Rigal-Huguet F, Blaise D, Thomas X, et al. Outcome of treatment in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia--results of the prospective multicenter LALA-94 trial. *Blood*. 2002;100(7):2357-66.
21. Gleissner B, Gokbuget N, Bartram CR, Janssen B, Rieder H, Janssen JW, et al. Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: a prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis. *Blood*. 2002;99(5):1536-43.
22. Faderl S, Kantarjian HM, Thomas DA, Cortes J, Giles F, Pierce S, et al. Outcome of Philadelphia chromosome-positive adult acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & lymphoma*. 2000;36(3-4):263-73.
23. Preti HA, O'Brien S, Giralt S, Beran M, Pierce S, Kantarjian HM. Philadelphia-chromosome-positive adult acute lymphocytic leukemia: characteristics, treatment results, and prognosis in 41 patients. *The American journal of medicine*. 1994;97(1):60-5.
24. Forman SJ, Schmidt GM, Nademanee AP, Amylon MD, Chao NJ, Fahey JL, et al. Allogeneic bone marrow transplantation as therapy for primary induction failure for patients with acute



leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1991;9(9):1570-4.

25. Barrett AJ, Horowitz MM, Ash RC, Atkinson K, Gale RP, Goldman JM, et al. Bone marrow transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1992;79(11):3067-70.

26. Chao NJ, Blume KG, Forman SJ, Snyder DS. Long-term follow-up of allogeneic bone marrow recipients for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1995;85(11):3353-4.

27. Miyamura K, Tanimoto M, Morishima Y, Horibe K, Yamamoto K, Akatsuka M, et al. Detection of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain reaction: possible eradication of minimal residual disease by marrow transplantation. *Blood*. 1992;79(5):1366-70.

28. Stockschlader M, Hegewisch-Becker S, Kruger W, tom Dieck A, Mross K, Hoffknecht M, et al. Bone marrow transplantation for Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Bone marrow transplantation*. 1995;16(5):663-7.

29. Dunlop LC, Powles R, Singhal S, Treleaven JG, Swansbury GJ, Meller S, et al. Bone marrow transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Bone marrow transplantation*. 1996;17(3):365-9.

30. Snyder DS, Nademanee AP, O'Donnell MR, Parker PM, Stein AS, Margolin K, et al. Long-term follow-up of 23 patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with allogeneic bone marrow transplant in first complete remission. *Leukemia*. 1999;13(12):2053-8.

31. Jacob R, Turley F, Redden DT, Saddekni S, Aal AKA, Keene K, et al. Adjuvant stereotactic body radiotherapy following transarterial chemoembolization in patients with non-resectable hepatocellular carcinoma tumours of ≤ 3 cm. *Hpb*. 2015;17(2):140-9.

32. Rousselot P, Coude MM, Gokbuget N, Gambacorti Passerini C, Hayette S, Cayuela JM, et al. Dasatinib and low-intensity chemotherapy in elderly patients with Philadelphia chromosome-positive ALL. *Blood*. 2016;128(6):774-82.

33. Thomas DA, Faderl S, Cortes J, O'Brien S, Giles FJ, Kornblau SM, et al. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood*. 2004;103(12):4396-407.

34. Wassmann B, Pfeifer H, Goekbuget N, Beelen DW, Beck J, Stelljes M, et al. Alternating versus concurrent schedules of imatinib and chemotherapy as front-line therapy for Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood*. 2006;108(5):1469-77.

35. Yanada M, Takeuchi J, Sugiura I, Akiyama H, Usui N, Yagasaki F, et al. High complete remission rate and promising outcome by combination of imatinib and chemotherapy for newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia: a phase II study by the Japan Adult



Leukemia Study Group. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2006;24(3):460-6.

36. LeukemiaNet. Update 2013. European LeukemiaNetRecommendations for the Management of Chronic Myeloid Leukemia (CML) 2013 [Available from: https://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/recommendations/e8078/infoboxContent10432/PocketCard_UPDATE2013_English.pdf].

37. Farkas DH, Holland CA. Chapter 3 - Overview of Molecular Diagnostic Techniques and Instrumentation. In: Tubbs RR, Stoler MH, editors. Cell and Tissue Based Molecular Pathology. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. p. 19-32.

38. Farrell RE. Chapter 18 - RT-PCR: A Science and an Art Form. In: Farrell RE, editor. RNA Methodologies (Fourth Edition). San Diego: Academic Press; 2010. p. 385-448.

39. Bachman J. Chapter Two - Reverse-Transcription PCR (RT-PCR). In: Lorsch J, editor. Methods in Enzymology. 530: Academic Press; 2013. p. 67-74.

40. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, Perdue ML, et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. Journal of clinical microbiology. 2002;40(9):3256-60.

41. Kang XP, Jiang T, Li YQ, Lin F, Liu H, Chang GH, et al. A duplex real-time RT-PCR assay for detecting H5N1 avian influenza virus and pandemic H1N1 influenza virus. Virol J. 2010;7:113.

42. Taylor S, Wakem M, Dijkman G, Alsarraj M, Nguyen M. A practical approach to RT-qPCR- Publishing data that conform to the MIQE guidelines. Methods. 2010;50(4):S1-5.

43. Varkonyi-Gasic E, Hellens RP. qRT-PCR of Small RNAs. Methods Mol Biol. 2010;631:109-22.

44. Bustin SA, Benes V, Nolan T, Pfaffl MW. Quantitative real-time RT-PCR--a perspective. J Mol Endocrinol. 2005;34(3):597-601.

45. Joyce C. Quantitative RT-PCR. A review of current methodologies. Methods Mol Biol. 2002;193:83-92.

46. Trump D. Chapter Two - Clinical genetics. In: Bennett P, Williamson C, editors. Basic Science in Obstetrics and Gynaecology (Fourth Edition): Churchill Livingstone; 2010. p. 13-24.

47. Gomes A, Korf B. Chapter 5 - Genetic Testing Techniques. In: Robin NH, Farmer MB, editors. Pediatric Cancer Genetics: Elsevier; 2018. p. 47-64.

48. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. Ann Intern Med. 2011;155(8):529-36.

49. Dasgupta S, Ray UK, Mitra AG, Bhattacharyya DM, Mukhopadhyay A, Das P, et al. Evaluation of a new flow cytometry based method for detection of BCR-ABL1 fusion protein in chronic myeloid leukemia. Blood Research. 2017;52(2):112-8.



50. Recchia AG, Caruso N, Bossio S, Pellicano M, De Stefano L, Franzese S, et al. Flow Cytometric Immunobead Assay for Detection of BCR-ABL1 Fusion Proteins in Chronic Myeloid Leukemia: Comparison with FISH and PCR Techniques. *PloS one*. 2015;10(6):e0130360.
51. Tashfeen S, Ahmed S, Bhatti FA, Ali N. Real time polymerase chain reaction in diagnosis of chronic myeloid leukemia. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2014;24(3):190-3.
52. Ranjbaran R, Okhovat MA, Abbasi M, Moezzi L, Aboualizadeh F, Amidzadeh Z, et al. Detection of t(9;22) b2a2 fusion transcript by flow cytometry. *International journal of laboratory hematology*. 2016;38(4):403-11.
53. Raanani P, Ben-Bassat I, Gan S, Trakhtenbrot L, Mark Z, Ashur-Fabian O, et al. Assessment of the response to imatinib in chronic myeloid leukemia patients - Comparison between the FISH, multiplex and RT-PCR methods. *European Journal of Haematology*. 2004;73(4):243-50.
54. Cox MC, Maffei L, Buffolino S, Del Poeta G, Venditti A, Cantonetti M, et al. A comparative analysis of FISH, RT-PCR, and cytogenetics for the diagnosis of bcr-abl-positive leukemias. *American journal of clinical pathology*. 1998;109(1):24-31.
55. Ali J, Khan SA, Rauf S, Ayyub M, Ali N, Afridi NK. Comparative Analysis of Fluorescence In Situ Hybridization and Real Time Polymerase Chain Reaction in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2017;27(1):26-9.
56. Kiss TL, Xu WM, Jamal N, Messner HA. Comparative testing of peripheral blood and bone marrow for BCR-ABL transcripts in patients post allogeneic bone marrow transplantation and during interferon treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia & lymphoma*. 1999;34(5-6):493-500.
57. Savasoglu K, Payzin KB, Ozdemirkiran F, Berber B. Effectiveness of Quantitative Real Time PCR in Long-Term Follow-up of Chronic Myeloid Leukemia Patients. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2015;25(8):568-72.
58. Jobbagy Z, van Atta R, Murphy KM, Eshleman JR, Gocke CD. Evaluation of the Cepheid GeneXpert BCR-ABL assay. *The Journal of molecular diagnostics : JMD*. 2007;9(2):220-7.
59. Pelz AF, Kroning H, Franke A, Wieacker P, Stumm M. High reliability and sensitivity of the BCR/ABL1 D-FISH test for the detection of BCR/ABL rearrangements. *Annals of hematology*. 2002;81(3):147-53.
60. Tong YQ, Zhao ZJ, Liu B, Bao AY, Zheng HY, Gu J, et al. New rapid method to detect BCR-ABL fusion genes with multiplex RT-qPCR in one-tube at a time. *Leukemia Research*. 2018;69:47-53.
61. Lee WI, Kantarjian H, Glassman A, Talpaz M, Lee MS. Quantitative measurement of BCR/abl transcripts using real-time polymerase chain reaction. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2002;13(5):781-8.



62. Moumen A, Dehbi H, Kottwitz D, El Amrani M, Bouchoutrouch N, El Hadi H, et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction as an efficient molecular tool for detecting minimal residual disease in Moroccan chronic myeloid leukemia patients. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14(1):1044-55.
63. Saffroy R, Lemoine A, Brezillon P, Frenoy N, Delmas B, Goldschmidt E, et al. Real-time quantitation of bcr-abl transcripts in haematological malignancies. *Eur J Haematol*. 2000;65(4):258-66.
64. IBGE. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação 2018 [Available from: <https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>].
65. NIH-SEER. Cancer Stat Facts: Leukemia - Chronic Myeloid Leukemia (CML) 2015 [Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmlyl.html>].
66. SEER NCI. Cancer Stat Facts: Leukemia - Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) 2015 [Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/alyly.html>].
67. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
68. Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973;243(5405):290-3.
69. Carlesso N, Frank DA, Griffin JD. Tyrosyl phosphorylation and DNA binding activity of signal transducers and activators of transcription (STAT) proteins in hematopoietic cell lines transformed by Bcr/Abl. *J Exp Med*. 1996;183(3):811-20.
70. Ilaria RL, Jr., Van Etten RA. P210 and P190(BCR/ABL) induce the tyrosine phosphorylation and DNA binding activity of multiple specific STAT family members. *J Biol Chem*. 1996;271(49):31704-10.
71. Mandanas RA, Leibowitz DS, Gharehbaghi K, Tauchi T, Burgess GS, Miyazawa K, et al. Role of p21 RAS in p210 bcr-abl transformation of murine myeloid cells. *Blood*. 1993;82(6):1838-47.
72. Okuda K, Matulonis U, Salgia R, Kanakura Y, Druker B, Griffin JD. Factor independence of human myeloid leukemia cell lines is associated with increased phosphorylation of the proto-oncogene Raf-1. *Experimental hematology*. 1994;22(11):1111-7.
73. Raitano AB, Halpern JR, Hambuch TM, Sawyers CL. The Bcr-Abl leukemia oncogene activates Jun kinase and requires Jun for transformation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(25):11746-50.
74. Sawyers CL, Callahan W, Witte ON. Dominant negative MYC blocks transformation by ABL oncogenes. *Cell*. 1992;70(6):901-10.



75. Shuai K, Halpern J, ten Hoeve J, Rao X, Sawyers CL. Constitutive activation of STAT5 by the BCR-ABL oncogene in chronic myelogenous leukemia. *Oncogene*. 1996;13(2):247-54.
76. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *American journal of hematology*. 2018;93(3):442-59.
77. Jabbour E, Cortes JE, Kantarjian HM. Molecular monitoring in chronic myeloid leukemia: response to tyrosine kinase inhibitors and prognostic implications. *Cancer*. 2008;112(10):2112-8.
78. Kantarjian H, Schiffer C, Jones D, Cortes J. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. *Blood*. 2008;111(4):1774-80.
79. Schoch C, Schnittger S, Bursch S, Gerstner D, Hochhaus A, Berger U, et al. Comparison of chromosome banding analysis, interphase- and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study on 350 cases. *Leukemia*. 2002;16(1):53-9.