

# Triagem neonatal para fibrose cística no SUS no Rio Grande do Sul

## *Cystic fibrosis neonatal screening in the Unified Health System in Rio Grande do Sul*

Helena Mocelin<sup>1,2</sup>, Gilberto Bueno Fischer<sup>2</sup>, Simone Martins de Castro<sup>1,3</sup>,  
Tarciana Grandi<sup>4</sup>, Marta Chapper<sup>1</sup>, Thaiane Rispoli<sup>3,4</sup>, Paula B. Sanseverino<sup>5</sup>

### RESUMO

A fibrose cística (FC) é uma das doenças genéticas autossômicas recessivas limitadoras da vida mais comuns. A doença é decorrente de mutações no gene CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) que expressa a proteína CFTR. A CFTR atua como um canal de cloro, e sua ausência ou função insuficiente ocasiona perda da homeostasia iônica e de água nas superfícies epiteliais. A doença é multissistêmica, mas os achados clínicos iniciais não são característicos, podendo ser confundidos com outras doenças comuns à faixa etária. A estratégia de triagem inclui a dosagem da tripsina imunorreativa, e tem por objetivo identificar as crianças com risco de apresentar a doença. Pacientes diagnosticados por triagem neonatal são mais bem nutridos, têm melhor função respiratória, e com tendência a melhor sobrevida e menos complicações graves precoces da FC. A triagem neonatal para fibrose cística pode ser realizada através de diferentes estratégias. Este artigo é uma revisão sobre o assunto, buscando discutir a estratégia disponível. É necessário aumentar o conhecimento sobre a doença e a estratégia da triagem neonatal para possibilitar o diagnóstico e instituição precoce do tratamento, com o objetivo de diminuir a mortalidade e morbidade na faixa etária pediátrica.

*Descritores:* Fibrose cística, triagem neonatal, tripsina imunorreativa, teste do suor.

### ABSTRACT

Cystic fibrosis (CF) is one of the most common life-limiting autosomal recessive genetic diseases. The condition is caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, which expresses the CFTR protein. CFTR acts as a chlorine channel, and its absence or insufficient function causes disruption of ionic and water homeostasis on epithelial surfaces. This is a multisystem disease, but initial clinical findings are nonspecific and may be confused with other common diseases in this age group. The screening strategy includes immunoreactive trypsin dosage, which aims to identify children at risk of presenting the disease. Patients diagnosed by neonatal screening are better nourished, have better respiratory function, and a tendency toward better survival and fewer severe early CF complications. CF neonatal screening can be performed through different strategies. This article is a review on the subject, aiming to discuss the strategies available. It is necessary to increase knowledge of the disease and of the neonatal screening strategy to allow early diagnosis and treatment initiation, with the objective of reducing mortality and morbidity in the pediatric age group.

*Keywords:* Cystic fibrosis, newborn screening, immunoreactive trypsin, sweat chloride test.

1. Serviço de Referência em Triagem Neonatal RS, Porto Alegre, RS.
2. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS.
3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
4. Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Porto Alegre, RS.
5. Médica Residente de Pediatra, Hospital da Criança Santo Antônio, Porto Alegre, RS.

Como citar este artigo: Mocelin H, Fischer GB, Castro SM, Grandi T, Chapper M, Rispoli T, et al. Triagem neonatal para fibrose cística no SUS no Rio Grande do Sul. Bol Cient Pediatr. 2017;06(1):3-8.

## Introdução

A fibrose cística (FC) é uma doença genética (OMIM 219700), limitadora de vida. A doença é causada por mutações em um gene chamado *CFTR transmembrane conductance regulator* (CFTR), que se localiza no braço longo do cromossomo 7. Esse gene codifica uma proteína expressa na membrana apical das células epiteliais exócrinas, que participa na homeostase dos fluidos na superfície das mucosas<sup>1,2</sup>. A doença é multissistêmica, e o reconhecimento precoce baseado nos sintomas da FC frequentemente é difícil, pois a maioria dos sintomas não é específica dessa condição<sup>3</sup>.

As manifestações clínicas resultam da disfunção da proteína CFTR. As manifestações mais frequentes são sintomas pulmonares persistentes, baixo ganho ponderal, e suor salgado. Lactentes identificados por teste de triagem neonatal (TTN) positivo, embora possam ter baixo peso, frequentemente não apresentam outras manifestações características da doença. A doença é progressiva, e o prognóstico dependente da instituição da terapêutica. Os pacientes que têm o diagnóstico baseado nos sintomas, apresentam o dobro de complicações antes do diagnóstico, comparados àqueles em que o diagnóstico é resultante da triagem neonatal.

A prevalência é variável, dependendo da frequência da mutação genética na população. No Brasil, existem variações regionais, sendo mais frequente nas populações eurodescendentes. Um estudo no Rio Grande do Sul, com amostras coletadas em laboratório da rede privada, encontrou uma incidência de 1/1.587 indivíduos<sup>4</sup>. Dados recentes do teste de triagem neonatal, ainda não publicados, demonstram uma frequência em torno de 1/10000.

Em 2017, foi publicado o *Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation*, o qual determina que o diagnóstico presuntivo de FC para fins de início de tratamento deve ser baseado nas seguintes circunstâncias clínicas: (1) TTN positivo, identificando duas mutações causadoras de FC; (2) TTN positivo e sinal clínico ou sintoma de FC; (3) Íleo meconial, independente do TTN<sup>5</sup>. Para o diagnóstico definitivo, é necessário a demonstração de disfunção da CFTR.

Em locais que dispõem de TTN, a maioria dos casos de FC são diagnosticados pela triagem neonatal. Em 2001, o Ministério da Saúde regulamentou as ações de saúde pública em triagem neonatal e a dividiu em fases<sup>6</sup>. A fibrose cística é incluída na fase 3, e, no RS, iniciou em junho de 2012. No Brasil, entre 2009 a 2014 foram diagnosticados 1.341 casos, dos quais 602 (44,9%) por triagem neonatal. Observa-se

um crescente de casos diagnosticados por TTN a cada ano, chegando a quase 70% do total de casos diagnosticados em 2014<sup>7</sup>. Esse aumento se dá pela inclusão progressiva de mais estados em fase 3 do Teste do pezinho.

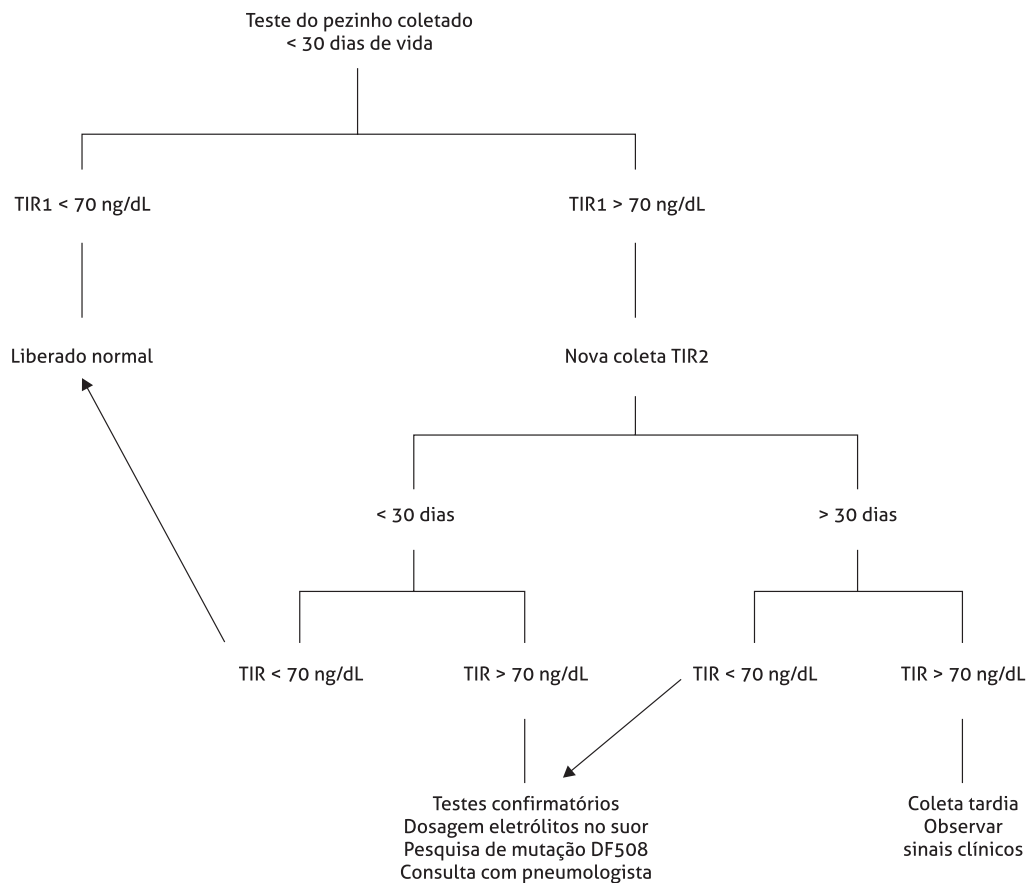
A realização do TTN com a medida dos níveis de tripsina imunorreativa (TIR) possibilita o rastreamento populacional para FC, e assim, cerca de 90% dos diagnósticos de FC em crianças assintomáticas podem ser antecipados até a sexta semana de vida. Quando a genotipagem é combinada ao teste do suor em recém-nascidos que apresentam TIR alterada, de maneira a identificar pelo menos a mutação mais comum, a F508del, a acuidade do rastreamento neonatal pode ser aumentada. A detecção precoce permite o acesso a tratamento especializado, e é fundamental para modificar o prognóstico da doença.

## Triagem para fibrose cística

A triagem neonatal para FC, disponível desde 1979, utiliza o método de determinação de tripsina imunorreativa, que tem sensibilidade em torno de 87%<sup>8</sup>. Protocolos de triagem têm por objetivo a identificação de lactentes com FC, que têm altos níveis sanguíneos de tripsina imunorreativa na primeira semana de vida. A Figura 1 apresenta as diferentes estratégias usadas no mundo para triagem de FC<sup>9</sup>. Para limitar o número de falso-positivos e alcançar uma combinação aceitável de especificidade e sensibilidade, uma variação de diferentes segundas amostras ou até terceiras amostras são usadas em crianças com TIR alterado. Para aumentar a acuidade do rastreamento, alguns locais utilizam uma combinação com teste de DNA para identificar pelo menos a mutação mais comum, a F508del.

## Estratégia TIR/TIR

A medida da TIR no sangue de recém-nascidos para triagem metabólica de FC baseia-se determinação quantitativa de TIR em sangue seco sobre papel de filtro. A TIR é uma enzima pancreática que, em razão da obstrução dos canalículos e ductos pancreáticos, é absorvida pela corrente sanguínea e encontra-se elevada nos recém-nascidos com FC. A mensuração na primeira semana de vida (TIR1) é bastante sensível para identificar crianças com FC, porém, não é um teste específico. Como a concentração do TIR declina após o nascimento, este método é restrito aos dois primeiros meses de vida, sendo que a maioria dos centros utiliza como limite para coleta o primeiro mês<sup>10</sup>. Coletas após este período aumentam a chance de resultados falso-negativos. Assim, uma segunda medida de TIR (TIR2)



**Figura 1 -** Fluxo de estratégia utilizada no RS para avaliação e seguimento de crianças na triagem neonatal para fibrose

na quarta semana de vida aumenta a especificidade. No Rio Grande do Sul, o ponto de corte de TIR utilizado no sistema público é 70 ng/mL, e o teste do suor e a pesquisa de F508del são os exames confirmatórios.

### Estratégia TIR/DNA: Teste de DNA

Considerando o declínio do IRT com o passar do tempo, os falso-positivos e a sensibilidade do teste, diversos centros incluem nos protocolos pesquisas moleculares para análise de mutação genética quando os pacientes apresentam o primeiro TIR alterado<sup>10-13</sup>. Este exame tem alta especificidade, e a identificação de duas mutações conhecidas confirma o diagnóstico. Mais de 2000 mutações já foram identificadas (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>) como causadoras de FC. Uma limitação é a

variação dos tipos de mutações nas diferentes populações, que contribui para diminuir a sensibilidade do teste.

Assim, o diagnóstico não pode ser excluído diante de um resultado negativo de pesquisa de mutações<sup>4</sup>. No RS, estima-se que 50 a 60% dos pacientes com FC apresenta a mutação F508del, e o sangue para análise é coletado no mesmo momento do Teste do suor. Para crianças com TTN positivo, hospitalizadas ou sem condições de realizar o Teste do suor, pode-se encaminhar ao laboratório de TN o sangue para pesquisa de mutação. Para casos suspeitos nos quais a dosagem de eletrólitos no suor seja inconclusiva, ou naqueles que apresentam a mutação F508del em um alelo, atualmente, também é realizada a pesquisa estendida para mais 11 mutações.

Um potencial atrapalhador da análise de DNA é a descoberta de informações genéticas de significado ainda não

bem definido, e a possibilidade de identificar indivíduos saudáveis heterozigotos<sup>14</sup>.

Estudos mais recentes mostram que estratégias alternativas como TIR/ Proteína Associada à Pancreatite (TIR/PAP) podem ser tão boas quanto TIR/DNA, sem as desvantagens dos testes genéticos. A estratégia TIR/PAP é comparável à TIR/DNA na identificação de casos típicos de FC, porém detectou menos casos leves<sup>9</sup>.

No Rio Grande do Sul, utilizamos a estratégia IRT/IRT. Os passos da estratégia são descritos na Figura 2. A Tabela 1 apresenta a interpretação do resultado de TIR1 e a conduta a ser tomada. Se na segunda amostra o valor for maior do que 70 ng/dL, considera-se o teste de triagem positivo, inclusive aquelas coletadas com mais de 30 dias

de vida, e o paciente deve ser encaminhado para realização de Teste do suor e biologia molecular para pesquisa de mutação F508del.

**Atenção: crianças com íleo meconial têm fibrose cística** até prova em contrário, e devem ser **transferidas imediatamente para centro de tratamento de FC**, onde receberão tratamento até comprovação do diagnóstico. Nestas crianças, resultados de TIR frequentemente são falso-negativos.

### Testes confirmatórios

O resultado de um teste de triagem positivo (2 TIR) sempre deve ser confirmado por um teste diagnóstico direto, inclusive aqueles com duas mutações detectadas. O padrão

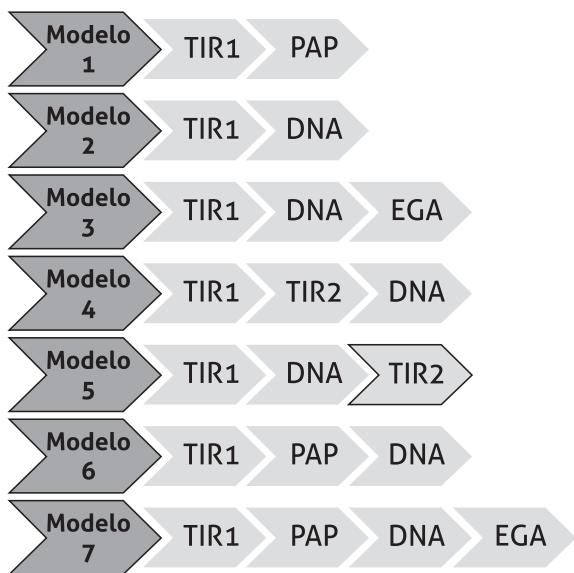
**Tabela 1 -** Interpretação do resultado de TIR e conduta

TIR 1			
Resultado	Interpretação	Conduta	
< 70 ng/dl	Resultado dentro do valor de referência	Nenhuma	
≥ 70 ng/dl	Resultado alterado	Colher nova amostra antes de 30 dias de vida	
Amostra inadequada		Colher nova amostra antes de 30 dias de vida	
TIR 2			
Resultado	Idade da criança na coleta (dias de vida)	Interpretação	Conduta
< 70 ng/dl	< 30	Resultado dentro do valor de referência	Nenhuma
< 70 ng/dl	> 30	Coleta tardia, valores não podem ser considerados	Acompanhamento clínico - atenção para sinais clínicos da doença
≥ 70 ng/dl	Qualquer idade	Resultado alterado	Encaminhar para realização de Teste do suor e biologia molecular para pesquisa de Delta F508
Amostra inadequada	< 30		Colher nova amostra
Amostra inadequada	> 30		Acompanhamento clínico - atenção para sinais clínicos da doença

Fonte: o autor.

Exame: dosagem da TIR (tripsina imunorreativa). Material: sangue seco em papel filtro. Método: ensaio imunofluorimétrico. Valor de referência: < 70 ng/dL.

ouro é a dosagem de eletrólitos no suor pelo método de Gibson-Cooke, que identifica em torno de 98% dos casos<sup>15</sup>. A realização do teste deve ser em laboratório vinculado a um programa de triagem ou centro de tratamento de FC.



TIR= tripsina imunorreativa, DNA= painel de mutações CFTR, EGA= painel estendido, PAP= proteína associada a pancreatite. Adaptada de Castelani et al.<sup>9</sup>.

**Figura 2 -** Modelos mais comuns de triagem neonatal para fibrose cística

São necessários dois testes alterados, em duas amostras, coletadas em momentos diferentes, com volume > 100 mg e cloro ≥ 60 mmol para confirmar a doença.

Algumas crianças são de difícil classificação, como as que apresentam TTN positivo e cloro no Teste de suor entre 30 e 59, e deverão continuar investigação até confirmar ou excluir FC<sup>5,16</sup>.

Os níveis de eletrólitos no suor são elevados nos primeiros dias de vida, mas declinam com o tempo, e após três dias os níveis são os mesmos daqueles vistos fora do período neonatal. Crianças com menos de 2 kg, os prematuros e lactentes de cor preta têm maior risco de amostra insuficiente.

Para crianças assintomáticas identificadas por teste de triagem a dosagem de eletrólitos no suor, pode ser realizada após 2 semanas de vida e peso acima de 2 kg. Entretanto, se o recém-nascido for sintomático, pode-se realizar após 48h de vida, embora haja maior probabilidade de resultados inconclusivos.

A Tabela 2 resume a conduta a partir dos testes diagnósticos. Os pacientes com fibrose cística e aqueles com forte suspeita, mas sem confirmação, diagnósticos complexos, resultados intermediários ou testes negativos na presença de duas mutações devem ter seguimento em um centro de FC para prosseguir investigação com esquema especial de agendamento precoce nos três centros já existentes: Hospital

**Tabela 2 -** Valores de referência de cloro no Teste do suor para o diagnóstico de fibrose cística em crianças com Teste de triagem neonatal positivo

Valor de cloro no suor	Idade	Considerações especiais	Conduta nas situações especiais
≤ 29 mmol/L	Recém- nascido	improvável	História familiar de FC ou sintomas
	Todas as idades		Sintomas clínicos e/ou 2 mutações que causam FC
30 a 59 mmol/L	Todas as idades	Pode ter FC	Encaminhar para centro de referência para continuar investigação
≥ 60 mmol/L	Todas as idades	Provável FC	Repetir dosagem eletrólitos no suor para confirmar e encaminhar para centro de referência

FC = fibrose cística.

de Clínicas de Porto Alegre, Hospital São Lucas da PUC, e Hospital da Criança Santo Antônio.

A triagem neonatal para FC oferece a oportunidade de intervenção precoce e melhora de desfechos aos pacientes. Uma criança com triagem positiva para FC deve ser submetida a exames confirmatórios e avaliação clínica diagnóstica. Os pacientes com fibrose cística necessitam de acompanhamento e tratamento multidisciplinar em centros de referência, para diminuir a morbidade e mortalidade.

### Referências

- Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-73.
- Frizzell, R. Ten years with CFTR. *Physiol Rev*. 1999;(79):S1-2.
- Welsh M, Ramsey BW, Accurso F, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver AB, Sly WS, Vall D. *The molecular and metabolic basis of inherited disease*. New York: McGraw- Hill; 2001. p. 5121-88.
- Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in 5 different states of Brazil as determined by screening of p.F508, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros*. 2008;1:15-22.
- Farrell MP, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr*. 2017;181S:S4-15.
- Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr*. 2008;153(2):S4-S14.
- Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal / Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência à Saúde, Coordenação Geral de Atenção Especializada. – Brasília: Ministério da Saúde; 2002.
- Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2014. Relatório Anual pelo Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística (GBEFC) ([www.gbefc.org.br](http://www.gbefc.org.br)).
- Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet*. 1979;1:472-4.
- Castellani C, Massie J, Sontag M, Southern KW. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00053-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00053-9)
- Rock MJ, Mischler EH, Farrell PM, Wei LJ, Bruns WT, Hassemer DJ, et al. Newborn screening for cystic fibrosis is complicated by age-related decline in immunoreactive trypsinogen levels. *Pediatrics*. 1990;85:1001-7.
- Gregg RG, Simantel A, Farrell PM, Kosciak R, Kosorok MR, Laxova A, et al. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: comparison of biochemical and molecular methods. *Pediatrics*. 1997 Jun;99(6):819-24.
- Ranieri E, Lewis BD, Gerace RL, Ryall RG, Morris CP, Nelson PV, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis using immunoreactive trypsinogen and direct gene analysis: four years' experience. *BMJ*. 1994;308:1469-72.
- Wilcken B, Wiley V, Sherry G, Bayliss U. Neonatal screening for cystic fibrosis: a comparison of two strategies for case detection in 1.2 million babies. *J Pediatr*. 1995;127:965-70.
- Sharp JK, Rock MJ. Newborn screening for cystic fibrosis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;35(3):107-15.
- Gibson L, Cooke R. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*. 1959;(23):545-99.
- Gonska T, Ratjen F. Newborn screening for cystic fibrosis. *Expert Rev Respir Med*. 2015;9(5):619-31.

### Correspondência:

Helena Mocelin

E-mail: [Hmocelin@gmail.com](mailto:Hmocelin@gmail.com)