



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

PEDRO PAULO LUSTOSA PEREIRA DA SILVA BRITO

**AVALIAÇÃO DO PROTOCOLO TIR/TIR COMO MÉTODO
DE TRIAGEM PARA FIBROSE CÍSTICA**

Salvador – Bahia

2022

PEDRO PAULO LUSTOSA PEREIRA DA SILVA BRITO

**AVALIAÇÃO DO PROTOCOLO TIR/TIR COMO MÉTODO
DE TRIAGEM PARA FIBROSE CÍSTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso
de Graduação em Medicina da Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública como requisito parcial no 4º
ano de Medicina

Orientadora: Prof^ª. Carolina de Godoy Almeida

Salvador – Bahia

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora, Carolina de Godoy, que esteve junto a mim nessa jornada de 1 ano e meio, me auxiliando, me guiando durante a construção do trabalho, que estava sempre disponível para tirar minhas dúvidas. Agradeço por ter sempre me deixado no eixo, me cobrando quanto aos prazos, e por sempre corrigir de forma tão completa e cheio de comentários, mesmo se o prazo estivesse apertado para ela (me desculpe por isso).

Agradeço ao professor de Metodologia da Pesquisa, Diego Rabelo, que foi de grande valia para a confecção do trabalho, e me deu suporte e instruções para cada etapa do trabalho, até o último momento da jornada.

Agradeço aos meus pais, Carina e Paulo, que foram sempre compreensíveis quanto às minhas demandas. Agradeço por, mesmo que sem entender as vezes, escutaram atenciosamente como estava o andamento do projeto na mesa de jantar, que se preocupavam durante a produção, sempre perguntando se precisava de algo. Agradeço também pelas vezes em que dormi na mesa e me levaram até o quarto.

Agradeço a meu irmão, Heitor, que por vezes fazia com que eu me desligasse nos momentos de exaustão e me chamava para fazer algo com ele, promovendo um intervalo tranquilo e prazeroso nos momentos em que estava produzindo. Agradeço pelas vezes em que coincidentemente bateu na porta quando eu me encontrava esgotado, me ajudando a dar uma pausa crucial.

Agradeço a minha namorada e amor da vida, Fernanda, por estar a todo momento comigo, fosse quando o projeto corria, fosse quando o projeto rastejava. Por me aturar noites e noites de produção, me dando motivação para continuar escrevendo, seja com comidas, carinho ou vibrações positivas. Agradeço por me chamar para assistir à um filme nos momentos que aquilo era tudo o que eu precisava.

Agradeço aos meus amigos, que por vezes me tranquilizaram com relação à produção do trabalho, que compadeciam se estava em momentos difíceis da construção, por me garantirem boas risadas nas pequenas conversas.

Obrigado a todos, por garantirem que o que eu comecei a escrever no meio de uma pandemia em 2020 com grandes dificuldades, se tornaria, em 2022, o que hoje eu tenho orgulho de chamar de Trabalho de Conclusão de Curso.

“Se eu vi mais longe, foi por estar em ombros de gigantes”

Newton, Isaac.

RESUMO

Introdução: A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva, que leva às patologias de múltiplos órgãos. A triagem neonatal para fibrose cística (TNFC), incorporada ao programa neonatal de triagem neonatal (PNTN) desde 2013, no estado da Bahia, utiliza duas amostras de tripsinogênio imunorreativo (TIR/TIR), com ponto de corte fixo de 70ng/mL e confirmação diagnóstica da FC por teste do suor (TS) e/ou identificação de duas variantes patogênicas no gene da proteína reguladora de condutância transmembrana (CFTR). A segunda amostra de TIR é indicada caso a primeira seja positiva. Os RN falso-negativos são diagnosticados quando apresentam sintomas sendo submetidos ao teste do suor. **Objetivos:** Avaliar a acurácia do atual método de triagem neonatal para fibrose cística (TIR/TIR) na Bahia, calculando a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do teste e analisar de forma retroativa o uso do ponto de corte flutuante, além de buscar alternativas para aprimorar o modelo atual adotado. **Métodos:** Estudo populacional, retrospectivo, utilizando os dados dos recém-nascidos (RN) submetidos à TNFC através do banco de dados do serviço de referência de triagem neonatal (SRTN), do estado entre 2013 e 2017. As variáveis estudadas para a avaliação do teste foram sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo. Foram utilizados os softwares Stata®, versão 17.0, SPSS®, versão 21.0 e o programa Microsoft® Excel para Mac, versão 16.48, 2020, além do Openepi (www.openepi.com), para tabulação e análise dos dados. Foi utilizado a curva ROC, sendo identificado como melhor valor de corte aquele com sensibilidade e especificidade máxima. Para observar o ponto de corte ideal, foi feito o índice de Youden, avaliando o ponto de corte flutuante do TIR1 e TIR2 do ano anterior para os percentis 99,4, 99,5, 99,6 e 99,7. **Resultados:** Entre 2013, e 2017, 840,832 recém-nascidos foram submetidos à triagem neonatal para FC. 41 lactentes foram diagnosticados pela triagem, porém apenas 13 passaram por todas as etapas. Denotou-se ainda a ocorrência de 605 falso-positivos. Ainda, 9/50 (18%) foram posteriormente diagnosticados com FC através de sintomas clínicos compatíveis, e por apresentarem uma triagem negativa foram classificados com falso-negativos. À análise, a triagem apresentou uma sensibilidade que variou de 55,6% a 100%, e um valor preditivo positivo que variou de 4,35% a 8,93% ao longo dos anos. Observou-se que o ponto de corte fixo é o mais adequado que o flutuante para o TIR1 e TIR2. O ponto de corte para o TIR2 > 90 ng/mL apresentou desempenho semelhante, podendo ser adotado como estratégia para redução de falso-positivos. **Conclusão:** O método de triagem neonatal para fibrose cística na Bahia apresenta uma sensibilidade sub-ótima e um baixo valor preditivo negativo; e para a população em questão não parece haver ganho em adotar o ponto de corte flutuante. Foi evidenciado que o aumento do corte do TIR2 pode trazer benefícios para a população, e a associação de outros métodos de triagem, como a dosagem da proteína associada à pancreatite (PAP), parecem ser ações promissoras e que merecem ser melhor estudadas, a fim de aprimorar a qualidade do atual TNFC.

Palavras-chave: *Fibrose Cística. Programa Nacional de Triagem Neonatal. Tripsinogênio Imunorreativo, Valor Preditivo Positivo. Sensibilidade. Acurácia, Proteína Associadas a Pancreatite.*

ABSTRACT

Introduction: Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease that leads to multiple organ pathologies. The Neonatal Screening for Cystic Fibrosis (NSCF), integrated into the Neonatal Screening Program (NSP) since 2013, in the state of Bahia, uses two samples of immunoreactive trypsinogen (IRT/IRT), with a fixed point of 70ng/mL and confirmation CF diagnosis by sweat test (ST) and/or identification of two pathogenic variants in the transmembrane conductance regulatory protein (CFTR) gene. The second IRT sample is indicated if the first is positive. False negatives are provided to the RN test. **Objectives:** To evaluate the accuracy of the current method of neonatal screening for cystic fibrosis (IRT/IRT) in Bahia, calculating the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the test and to retroactively analyze the use of the floating cut-off point, in addition to seek alternatives to improve the current model adopted. **Methods:** Population, retrospective study, using data from newborns (NB) submitted to TNFC through the database of the referral service for neonatal screening (SRTN), in the state between 2013 and 2017. The variables studied for the evaluation of test were sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value. Stata[®], version 17.0, SPSS[®], version 21.0 and Microsoft[®] Excel for Mac, version 16.48, 2020, in addition to Openepi (www.openepi.com), were used for data tabulation and analysis. The ROC curve was used, and the one with maximum sensitivity and specificity was identified as the best cut-off value. To observe the ideal cut-off point, the Youden index was made, evaluating the floating cut-off point of the IRT1 and IRT2 of the previous year for the 99.4, 99.5, 99.6 and 99.7 percentiles. **Results:** Between 2013 and 2017, 840,832 newborns underwent neonatal screening for CF. 41 infants were diagnosed by screening, but only 13 went through all stages. It was also noted the occurrence of 605 false positives. Also, 9/50 (18%) were later diagnosed with CF through compatible clinical symptoms, and because they had a negative screening, they were classified as false negatives. Upon analysis, screening showed a sensitivity that ranged from 55.6% to 100%, and a positive predictive value that ranged from 4.35% to 8.93% over the years. It was observed that the fixed cut-off point is more suitable than the floating one for IRT1 and ITR2. The cutoff point for IRT2 > 90 ng/mL showed similar performance, and can be adopted as a strategy to reduce false positives. **Conclusion:** The neonatal screening method for cystic fibrosis in Bahia has a sub-optimal sensitivity and a low negative predictive value; and for the population in question there seems to be no gain in adopting the floating cut-off point. It was evidenced that increasing the IRT2 cutoff can bring benefits to the population, and the association of other screening methods, such as pancreatitis-associated protein (PAP) measurement, seem to be promising actions that deserve to be better studied, the in order to improve the quality of the current TNFC.

Keywords: *Cystic Fibrosis. National Neonatal Screening Program. Immunoreactive Trypsinogen, Positive Predictive Value. Sensitivity. Accuracy, Protein Associated with Pancreatitis.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desfechos da Triagem Neonatal de Fibrose Cística (2013-2017)

Figura 2 – Curva ROC e Area Under Curve (AUC) para a primeira dosagem do tripsinogênio imunorreativo anualmente e de forma acumulada

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação da acurácia do teste de triagem neonatal para fibrose cística anualmente e de forma acumulada.

Tabela 2 – Dados anuais da acurácia da primeira dosagem do Tripsinogênio imunorreativo com adoção de diferentes pontos de corte.

Tabela 3 – Dados anuais da acurácia da segunda dosagem do Tripsinogênio imunorreativo com adoção de diferentes pontos de corte.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APAE	ASSOCIAÇÃO DOS AMIGOS E PAIS DOS EXCEPCIONAIS
AUC	AREA UNDER CURVE
CFTR	PROTEÍNA REGULADORA DE CONDUTÂNCIA TRANSMEMBRANA
CI	INTERVALO DE CONFIANÇA
CRTFC	CENTRO DE REFERÊNCIA PARA O TRATAMENTO DE FIBROSE CÍSTICA
ELISA	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO
FC	FIBROSE CÍSTICA
GBEFC	GRUPO BRASILEIRO DE ESTUDO DE FIBROSE CÍSTICA
HUPES	HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROFESSOR EDGAR SANTOS
MAX	MÁXIMO
MIN	MÍNIMO
PAP	PROTEÍNA ASSOCIADA À PANCREATITE
PNTN	PROGRAMA NACIONAL DA TRIAGEM NEONATAL
RN	RECÉM-NASCIDO
SRTN	SERVIÇO DE REFERÊNCIA DE TRIAGEM NEONATAL
SSA	SALVADOR
SUS	SERVIÇO ÚNICO DE SAÚDE
TIR	TRIPSINOGENIO IMUNORREATIVO
TN	TRIAGEM NEONATAL
TNFC	TRIAGEM NEONATAL PARA FIBROSE CÍSTICA
TS	TESTE DO SUOR
UFBA	UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
VPN	VALOR PREDITIVO NEGATIVO
VPP	VALOR PREDITIVO POSITIVO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	11
3	REVISÃO DE LITERATURA	12
4	METODOLOGIA	16
5	RESULTADOS.....	21
6	DISCUSSÃO	31
7	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva que leva à mutação da proteína reguladora de condutância transmembrana (CFTR), ocasionando patologias em múltiplos órgãos, sendo os mais acometidos o pulmão, o pâncreas, o fígado e vias biliares ¹. A FC pode ser rastreada pela triagem neonatal ² e posteriormente diagnosticada pelo teste do suor ou pelo estudo genético. A triagem neonatal (TN) foi inicialmente proposta por Dr. Robert Guthrie em 1963. Ela fundamentava-se em utilizar um ensaio de inibição bacteriana numa amostra de sangue seco coletada dos recém-nascidos através de um papel filtro e em seguida detectar a concentração de fenilalanina. ³. O seu objetivo inicial era identificar a fenilcetonúria nos pacientes. Posteriormente, a sua técnica foi utilizada pelo mundo inteiro ⁴, identificando não apenas a fenilcetonúria, mas diversas outras doenças, como deficiência de biotinidase, FC, dentre outras ⁵.

No Brasil, a TN foi incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS) através do Programa Nacional da Triagem Neonatal (PNTN), iniciando de maneira tímida em 1992 e atualmente presente em todos os estados, abarcando a identificação de diversas outras doenças ⁶. Para a triagem neonatal da fibrose cística (TNFC) no Brasil é utilizado o protocolo TIR/TIR, onde são coletadas 2 amostras de sangue seco para a dosagem da tripsina imunorreativa (TIR), sendo a primeira dosagem feita, preferencialmente, em todos os recém-nascidos entre 5 e 10 dias de vida. Já a segunda dosagem deve ser colhida no caso de a 1ª amostra ser positiva (valor maior ou igual a 70 ng/ml). Ambas as amostras não devem colhidas após o 30º dia de vida do recém-nascido, pois perdem seu valor. ⁷. Se a segunda dosagem persistir maior ou igual a 70 ng/ml, é realizado o teste de suor e/ou o estudo genético, confirmando a doença caso a concentração de cloreto no suor seja maior ou igual a 60 mmol/L ou na presença de 2 mutações patogênicas do CFTR alterados ⁸. O teste do suor é considerado o padrão ouro para diagnóstico de fibrose cística. ⁹.

Contudo, o atual método de TNFC no Brasil apresenta algumas particularidades inerentes que podem dificultar o rastreamento correto da doença e prejudicar o diagnóstico. Recém-nascidos (RN) que nascem com peso abaixo de 2500g apresentam uma dosagem menor de TIR (percentil 95) quando comparados à RN acima de 2500g ¹⁰. Além disso, a necessidade de uma segunda coleta de TIR aumenta o tempo para o diagnóstico e eleva o risco de falha em alguma etapa, bem como fatores ambientais de armazenamento possibilitam alteração da concentração de TIR

nas amostras ¹¹. Devido a essas situações citadas, o método é susceptível a resultados falso-negativos, sendo descrito em algumas referências uma ocorrência de 5 a 10% desses resultados. Já a ocorrência de falsos positivos é mais comum, porém com a necessidade de se realizar o teste do suor para confirmação diagnóstica, esse valor não tem implicações clínicas relevantes, porém existem implicações psicológicas, gerando certo grau de apreensão e ansiedade aos genitores desses recém-nascidos triados, além de custo extra para o Estado, com transporte do recém-nascido até o centro de referência para o tratamento de Fibrose Cística (CRTFC) e o custo do próprio exame. Em estudo de Rock et al, 1989, percebemos como isso ocorre: de 92 RN com TIR aumentado, 79 (85,9%) apresentaram um teste do suor negativo ¹². O recebimento de um falso positivo para os pais pode ser angustiante à princípio, favorecendo um sofrimento psicossocial de longa data ¹³.

Além dos problemas no método de triagem, a fibrose cística apresenta um quantitativo elevado de mutações gênicas que se possuem graus diferentes de patogenicidade. As apresentações clínicas diferenciadas estão intimamente associadas às diferentes apresentações mutagênica e dependem da heterogeneidade populacional, que influenciam não apenas no modelo local de triagem adotado, como também nos valores dos pontos de corte adotados ¹¹. Assim sendo, a ausência de estudos na população da Bahia acaba por dificultar a definição de qual seria o melhor ponto de corte para o TIR e qual o melhor protocolo de triagem a ser adotado para que o diagnóstico da FC seja mais eficaz.

No período de janeiro de 2013 a Dezembro de 2017 foram coletados os dados sobre a TNFC no estado da Bahia ¹⁴. Nesse estudo observou-se a presença de 9 crianças diagnosticadas posteriormente com FC apesar da TN ter sido negativa. Notou-se também uma perda muito grande de indivíduos em todo o processo da TNFC. Tendo em vista essas observações, propomos esse estudo, com o objetivo de analisarmos a acurácia da TNFC baseada em duas dosagens do TIR na população baiana, além de uma análise da eficácia de um ponto fixo ou de um ponto de corte flutuante para esse mesmo teste. Objetiva-se dessa forma tornar a TNFC mais efetiva e estabelecer um maior número de diagnósticos corretos e de forma mais precoce possível, favorecendo um direcionamento terapêutico mais rápido, garantindo, portanto, um melhor prognóstico aos portadores de fibrose cística.

2 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL: Avaliar a acurácia do atual método de triagem neonatal para fibrose cística (TIR/TIR) na Bahia.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Calcular sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do TIR para FC.
- Analisar de forma retroativa se o uso de ponto de corte flutuante é mais adequado como modelo de triagem populacional para FC.
- Realizar análise crítica sobre o uso do protocolo TIR/TIR isolado como método de triagem para FC, buscando na literatura alternativas factíveis que aprimorariam esse modelo atual adotado.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A FC é uma doença multissistêmica causada por mutação no CFTR, modificando a secreção de cloreto, a reabsorção de sódio e o transporte de água, tornando o muco secretado altamente concentrado e espesso ¹⁵. Dessa forma, desregula o balanço hidroeletrolítico das células respiratórias, hepáticas e pancreáticas principalmente, levando ao aumento da viscosidade dos líquidos que permeiam esses órgãos e de outros sistemas ¹⁶. Os sintomas da doença se dão logo ao nascimento (a exemplo do íleo meconial), ou mais tardiamente na infância, com infecções do trato respiratório, por exemplo, ou da diabetes secundária à FC ¹⁷.

O diagnóstico da FC, após o advento da TNFC, deve ser feito preferencialmente na infância, principalmente nos 2 primeiros meses de vida. Para o diagnóstico correto da doença, deve ser considerado os sinais clínicos, histórico familiar e o resultado da TNFC dos RN, seguida de exames confirmatórios ¹⁸⁻²⁰. Assim, com o diagnóstico precoce, é possível introduzir medicações recentes como ivacaftor (facilita abertura do canal CFTR), mudando sobremaneira o prognóstico das crianças. ^{21,22}

A TN como um todo é fundamentada em situações que levam em conta a relação do custo-benefício, da presença de um teste confirmatório apropriado e da existência de uma intervenção. Além disso, deve também ser considerada a aceitabilidade da população e as diferenças culturais e raciais entre os países ²³. A TNFC, através do diagnóstico precoce do indivíduo, traz diversos benefícios, como um ganho ponderal otimizado, bem como o favorecimento do desenvolvimento da criança, além de menos admissões em hospital por doenças pulmonares, acarretando maior sobrevida, quando comparado com indivíduos que obtém um diagnóstico tardio. ²⁴⁻²⁶

No final da década de 70, a mensuração de tripsinogênio imunorreativo (TIR) sérico durante os primeiros meses de vida nas crianças portadoras de FC demonstrou níveis elevados dessa proteína, o que fora também percebido nas amostras de sangue seco de recém-nascidos ²⁷. O biomarcador TIR coletado em amostras de sangue seco, garantiu a viabilidade do rastreio da FC, possivelmente devido à alteração secretiva do ducto pancreático. Este deve ser coletado ainda na primeira semana de vida do RN, entretanto, um segundo teste deve ser feito, a fim de aumentar a especificidade da triagem, para então serem confirmados com a concentração de cloreto no teste do suor e/ou a pesquisa de mutações gênicas ^{8,17,23,28}.

Assim, a TNFC vem sendo sempre aprimorada e ampliada em diversos estudos, e atualmente abarca diversas estratégias de rastreio, como 2 dosagens de TIR (TIR/TIR), uma dosagem de TIR seguida de análise de DNA (TIR/DNA), uma dosagem de TIR seguida de amostra de proteína associada à pancreatite (PAP), dentre outras, apresentando ainda pontos de corte fixos e flutuantes ²⁹⁻³¹.

A estratégia TIR/TIR baseia-se em uma dosagem de TIR, seguida de uma 2ª amostra, também à sangue seco, em caso da primeira encontrar-se aumentada. A primeira dosagem deve ser feita entre os primeiros 10 dias de vida, enquanto a 2ª deve ser coletada, preferencialmente até o 30º dia de vida do recém-nascido, mas preferencialmente até o 20º dia de vida. Essa estratégia é utilizada em diversos países como Austrália, Bélgica e França ⁹. O ponto de corte da concentração de TIR varia de país para país ³². No Brasil este modelo foi adotado, tendo em vista seu custo e não conhecermos ainda o painel de mutações das diversas regiões do país, sobretudo pela heterogeneidade étnica da população. RN que apresentam um TIR maior ou igual a 70ng/ml na primeira amostra são submetidos novamente ao exame. Se a 2ª dosagem de TIR persistir maior ou igual a 70ng/ml, o RN será submetido ao teste do suor ^{8,33}. Contudo, essa estratégia demanda maior tempo para ser realizada, e por conter duas amostras corre duplamente risco do valor do TIR ser alterado por falhas na técnica da coleta, condições clínicas do RN, variações sazonais e erros de armazenamento e transporte, levando à ocorrência tanto de falso-positivos quanto de falso-negativos ¹⁰.

Para reduzir as implicações negativas desta técnica de TNFC, estudos sugerem o ajuste do valor de corte, aumentando-o ou reduzindo-o, a depender do histórico da triagem no local, ou seja, o uso de um valor de corte flutuante ^{34,35}. O ponto de corte flutuante é baseado em avaliar uma amostra populacional, estaticamente relevante, em determinado período de tempo, e a partir dessa análise definir qual será o ponto de corte para a mesma população estudada anteriormente. Dessa forma, torna-se possível a identificação de verdadeiros doentes que não seriam identificados se mantivéssemos o ponto de corte fixo, não levando em conta a variabilidade gênica populacional ¹¹.

Apesar da técnica de TN com uso de painel mutacional ser mais dispendiosa, há aumento da especificidade da triagem, porém com uma sensibilidade variada, a depender da região e grupo étnico que esteja sendo submetido à TNFC ^{29,36}. Ainda assim, estudos apontam maior sensibilidade com a técnica TIR/DNA, quando comparada com TIR/TIR ^{9,37,38}. No Brasil, a implementação dessa técnica pode ser mais complicada, não apenas pelo custo do método para

triagem, mas também pela prevalência da mutação F508del. Assim sendo, existe grande divergência quanto a prevalência da homozigose dessa mutação nos diferentes estados do país. Enquanto pesquisas apontam dados favoráveis no sul (57,89% de homozigotos), em Minas Gerais a prevalência é de 26% para homozigose da mutação, ao passo que 23% em São Paulo³⁹⁻⁴³. Isso sofre influência sobretudo do perfil étnico diverso podendo dificultar o rastreamento com essa técnica³⁶.

Outra técnica existente é a TIR/PAP, utilizada em alguns países europeus como TNFC⁴⁴. Estudos revelaram que a proteína associada à pancreatite (PAP) em recém-nascidos com fibrose cística encontra-se aumentada. A PAP foi uma alternativa para dispensar uma segunda amostra de sangue seco no teste de triagem. Apesar dela, assim como o TIR, não ser totalmente específico para FC, a mensuração das duas aumenta a especificidade da triagem⁴⁵. Assim como os demais testes, a triagem se inicia com a dosagem de TIR numa amostra de sangue seco. Encontrando-se elevada, é realizado um ensaio imunoenzimático (ELISA) para a mensuração do PAP. O ponto de corte do PAP varia de acordo com o resultado do TIR. Com o valor de PAP sugestivo para FC, confirma-se o diagnóstico realizando o teste do suor^{29,44,46}.

Um estudo argentino demonstrou que o uso da técnica TIR/PAP apresentou uma sensibilidade maior, quando comparada com o TIR/TIR, além de reduzir em metade a quantidade de recém-nascidos que realizaram o teste do suor, reduzindo o custo do programa neonatal⁴⁷. Ademais, em uma pesquisa da avaliação da triagem para FC em São Paulo o TIR/TIR apresentou um valor preditivo positivo de 1,2% e uma baixa sensibilidade (88,5%)⁴⁸, quando o esperado é maior do que 95%⁴⁹.

Apesar de todas as técnicas de TNFC, a confirmação diagnóstica se dá pelo teste do suor (TS), padrão ouro para o diagnóstico de fibrose cística¹⁶. Instituído desde 1959, por Gibson e Cooke. A técnica de iontoforese quantitativa pela pilocarpina se mantém como método de escolha para o diagnóstico da FC⁵⁰. Em concordância, o mapeamento das mutações do gene CFTR também vem sendo validado, tanto para esclarecimento diagnóstico, nos casos de TS duvidoso (entre 30 e 60 mEq/mL da dosagem do Cl⁺⁺), como para o tratamento, nos casos de mutação com possibilidade de medicação moduladora. A presença de 2 mutações alélicas confirma o diagnóstico de FC^{17,21}.

Tudo isso posto, percebe-se que para a incorporação de uma TNFC efetiva precisamos de uma metodologia específica que tenha um custo adequado para a realidade do nosso país e que consiga atingir uma sensibilidade e especificidade onde a ocorrência tanto de falsos negativos

quanto de falsos positivos sejam minimizados. Atualmente percebe-se que a ausência de estudos na Bahia pode estar corroborando para utilização de um teste que pode não ser o mais adequado para essa população. Por isso, saber qual a acurácia atual do método de TNFC na Bahia tornará possível avaliar se este vem sendo um método eficaz de triagem, capaz de estabelecer o máximo de diagnósticos com precisão e precocidade que são exigidos. Além disso, ao propormos e verificarmos de forma retroativa o uso de um ponto de corte flutuante, acredita-se que essa possa ser uma estratégia de aprimoramento da TNFC no Estado, principalmente reduzindo o número de falsos positivos.

4 METODOLOGIA

DESENHO DO ESTUDO:

- Estudo ecológico, populacional de coorte retrospectiva
- Perfil epidemiológico: Estudo original, populacional

AMOSTRA DO ESTUDO:

Recém-nascidos submetidos ao teste de triagem neonatal para fibrose cística pelo serviço único de Saúde (SUS) no Estado da Bahia, entre os anos de 2013 e 2017.

TAMANHO DA AMOSTRA:

Como trata de estudo ecológico, foram coletados os dados de todos os recém-nascidos (RN) submetidos à triagem neonatal (TN) na rede de coleta conveniada ao SUS no estado da Bahia no período do estudo.

LOCAL DO ESTUDO:

O estado da Bahia, localizado na região Nordeste do Brasil, tem uma área total aproximada de 570 km², com população de cerca de 15 milhões de habitantes e aproximadamente 200.000 nascimentos ao ano. É composto por 417 municípios e conta com 2.700 postos de atenção primária para a coleta de amostras para a TN. O laboratório da Associação dos Amigos e Pais dos Excepcionais de Salvador (APAE/ SSA), localizado em Salvador, capital do estado, é o serviço de referência para triagem neonatal (SRTN) do estado, assumindo o processamento e análise de todas as amostras do território descrito acima.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

Todos os recém-nascidos (RN) que foram submetidos à TN na rede de coleta conveniada ao Sistema Único de Saúde (SUS) no estado da Bahia foram elegíveis.

PROCEDIMENTO DA COLETA DE DADOS:

Procedimentos para a Triagem Neonatal para a Fibrose Cística no Estado da Bahia

O algoritmo de triagem adotado pelo SRTN na Bahia é semelhante ao sugerido pelo Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose cística (GBEFC) e Ministério da Saúde ² e adotado pela maioria dos estados brasileiros. A estratégia utilizada envolve a dosagem da tripsina imunorreativa (TIR) em dois momentos distintos (protocolo TIR/TIR). O processo envolve a coleta de amostra de sangue seco em papel filtro nas unidades de saúde conveniadas. A primeira dosagem do TIR (TIR1) deve ser realizada, preferencialmente, entre o terceiro e quinto dia de vida ⁸. A segunda dosagem do TIR (TIR2) é necessária nos casos em que a TIR1 é positiva ($\geq 70\text{ng/mL}$), devendo ser coletada idealmente entre 10 e 21 dias de vida. Se o valor de TIR2 também for positivo ($\geq 70\text{ng/mL}$), o indivíduo deve ser encaminhado para avaliação clínica e realização de teste do suor nos Centros de Referência para tratamento da fibrose cística (CRTFC). Coletas de amostras para dosagens de TIR1 ou TIR2 em indivíduos com idade superior a 30 dias serão consideradas inadequadas e não confiáveis ².

Processamento das amostras em papel filtro

As amostras de sangue são coletadas em papel filtro, nas Unidades Básicas de Saúde ou nas Maternidades. Após a coleta, as amostras são encaminhadas para o SRTN, preferencialmente, por transporte rodoviário fornecido pelos municípios. Após o recebimento, as amostras são processadas no equipamento AutoDELFIA® Instrument (Waltham, EUA), utilizando os kits AutoDELFIA Neonatal TIR Kit PerkinElmer®, através da técnica de imunofluorimetria automatizada.

Teste do Suor

Nos CRTFC, conforme o algoritmo pré-estabelecido, as crianças são submetidas ao TS através da técnica quantitativa de iontoforese por pilocarpina com dosagem de cloreto no suor.

Concentrações de cloreto no teste de suor abaixo de 30mEq/L são consideradas normais e aquelas iguais ou superiores a 60mEq/L são consideradas positivas, sendo necessária a realização de dois exames positivos para confirmação diagnóstica da doença. Valores entre 30 e 59mEq/L são considerados duvidosos, sendo programada repetição do TS em outro momento e/ou investigação genética adicional.

Variáveis e operacionalização dos desfechos estudados

As variáveis de interesse foram número de nascidos vivos a cada ano no estado e as confirmações diagnósticas de FC após realização de TS ou sequenciamento genético. Também foram analisadas variáveis como: valores de TIR1 e TIR2, número de indivíduos com FC, mas com TNFC negativa. Todos os dados foram obtidos no banco de dados SMART CLIN® do SRTN, onde as informações da triagem neonatal no estado são regularmente registradas.

O número de nascidos vivos no estado da Bahia foi obtido no sítio do DATASUS⁵¹, em cada ano estudado.

Para avaliar os indicadores de acurácia da TNFC as variáveis foram:

- a) Sensibilidade
- b) Especificidade
- c) Valor Preditivo Positivo (VPP)
- d) Valor Preditivo Negativo (VPN)
- e) Acurácia

As coletas foram consideradas atrasadas quando o TIR1 foi coletado após o 15º dia de vida e inadequadas quando TIR1 ou TIR2 foram coletados após 30 dias do nascimento^{8,52}. Amostras inapropriadas foram consideradas quando o material colhido não conseguiu ser processado por problemas técnicos na coleta, armazenamento ou transporte

FONTE DE DADOS:

Dados secundários, provenientes do Banco Smart Clinic® do SRTN da Bahia.

INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO:

Os dados serão foram transferidos para o programa Microsoft Excel® para Mac, versão 16.48, 2020, para a realização da construção do banco de dados.

PLANO DE ANÁLISE DE DADOS:

Foram utilizados os softwares Stata®, versão 17.0, SPSS®, versão 21.0 e o programa Microsoft® Excel para Mac, versão 16.48, 2020, além do Openepi (www.openepi.com), para tabulação e análise dos dados. Estatística descritiva adotando-se as medidas usuais de tendência central (Média e Mediana) e de dispersão (Amplitude, Variância, Desvio-Padrão e Coeficiente de Variação), para indicadores quantitativos e, medidas de frequências simples e relativas, para as categóricas.

Foram considerados falso-positivos os lactentes que apresentaram a amostra de TIR1 positivo, porém TS negativo ou TIR1 e TIR2 positivos, entretanto com TS negativo. Já os falso-negativos correspondem aos pacientes negativos na triagem (TIR1 negativo, ou TIR1 positivo com TIR2 negativo), que apresentaram sintomas compatíveis e confirmados com o teste do suor no seguimento.

A curva ROC foi obtida usando o método não paramétrico proposto por DeLong. Valores de Area sob a curva (Area under Curve – AUC) foram estimados com os respectivos intervalos de confiança de 95% usando o método binomial. Para cada valor de TIR1 foi avaliado a sensibilidade, especificidade e o número de falsos positivos. Considerou-se como o melhor ponto de corte o que manteve a sensibilidade máxima, com a maior especificidade. Para garantir esse objetivo foi o utilizado o índice de Youden. O índice de Youden é uma medida da capacidade de um teste de diagnóstico para equilibrar a sensibilidade (detecção de doença) e especificidade (detecção de saúde ou nenhuma doença). Dessa forma para cada ano o maior valor do índice associado a um determinado valor de TIR foi apresentado como o ponto de corte ideal. Ainda para a análise do efeito do ponto de corte flutuante foram considerados os valores de TIR1 e TIR2 do ano anterior para os percentis 99.4, 99.5, 99.6 e 99.7⁵³.

ASPÉCTOS ÉTICOS:

Os dados utilizados no presente estudo serão obtidos de um estudo maior (CAE: 79495717.1.0000.0049), já submetido ao comitê de ética do HUPES/ UFBA e aprovado, com

parecer consubstanciado de número 2.389.852. O atual projeto obedecerá aos princípios de ética em pesquisa estabelecido pela Declaração de Helsinque e está de acordo com a resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

5 RESULTADOS

Entre 2013 e 2017, foram registrados 1.017.576 nascidos vivos na Bahia. Desses, 840.832 (82,6%) foram submetidos à triagem neonatal para fibrose cística (TNFC), sendo que 6.710 (0,8%) amostras foram consideradas inapropriadas para análise. A **figura 1** demonstra cada etapa da triagem, as perdas ocorridas e os desfechos principais. Observa-se um percentual total de perdas de 0,93%, entretanto se levarmos em conta somente a segunda etapa da TNFC, nota-se uma perda de 23,6%.

Ao todo, 41 lactentes tiveram seu diagnóstico confirmado pela triagem, o que corresponde a uma porcentagem de 0,84% entre aquelas crianças com TIR1 positiva. Ainda, posteriormente houve 9 (4,5%) diagnósticos confirmados de crianças que passaram pela TNFC, mas que tiveram uma triagem negativa (falso negativos). Das crianças com TNFC positiva, somente 13 (33,3%) desses foram diagnosticados cumprindo todas as etapas do processo (TIR1/TIR2/TS). Houve 28 (68,3%) indivíduos que tiveram o diagnóstico sem terem feito a dosagem do TIR2, devido à demora no processo como um todo.

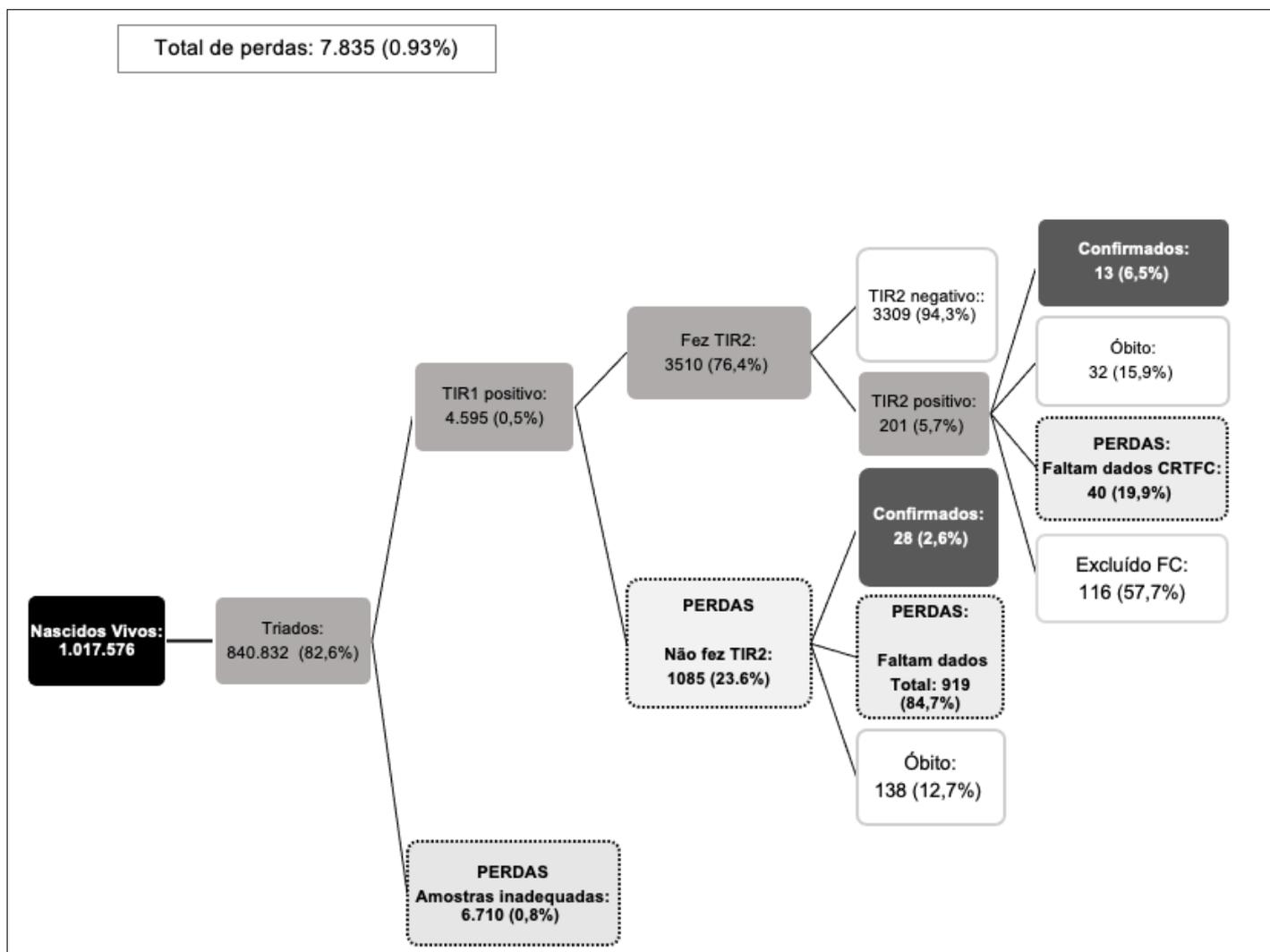


Figura 1 – Desfechos da Triagem Neonatal de Fibrose Cística (2013-2017)

TIR1: 1ª dosagem de tripsina imunorreativa; TIR2: 2ª dosagem de tripsina imunorreativa; CRTFC: Centros de Referência para Tratamento da Fibrose Cística; FC: Fibrose cística.

Fonte: autores

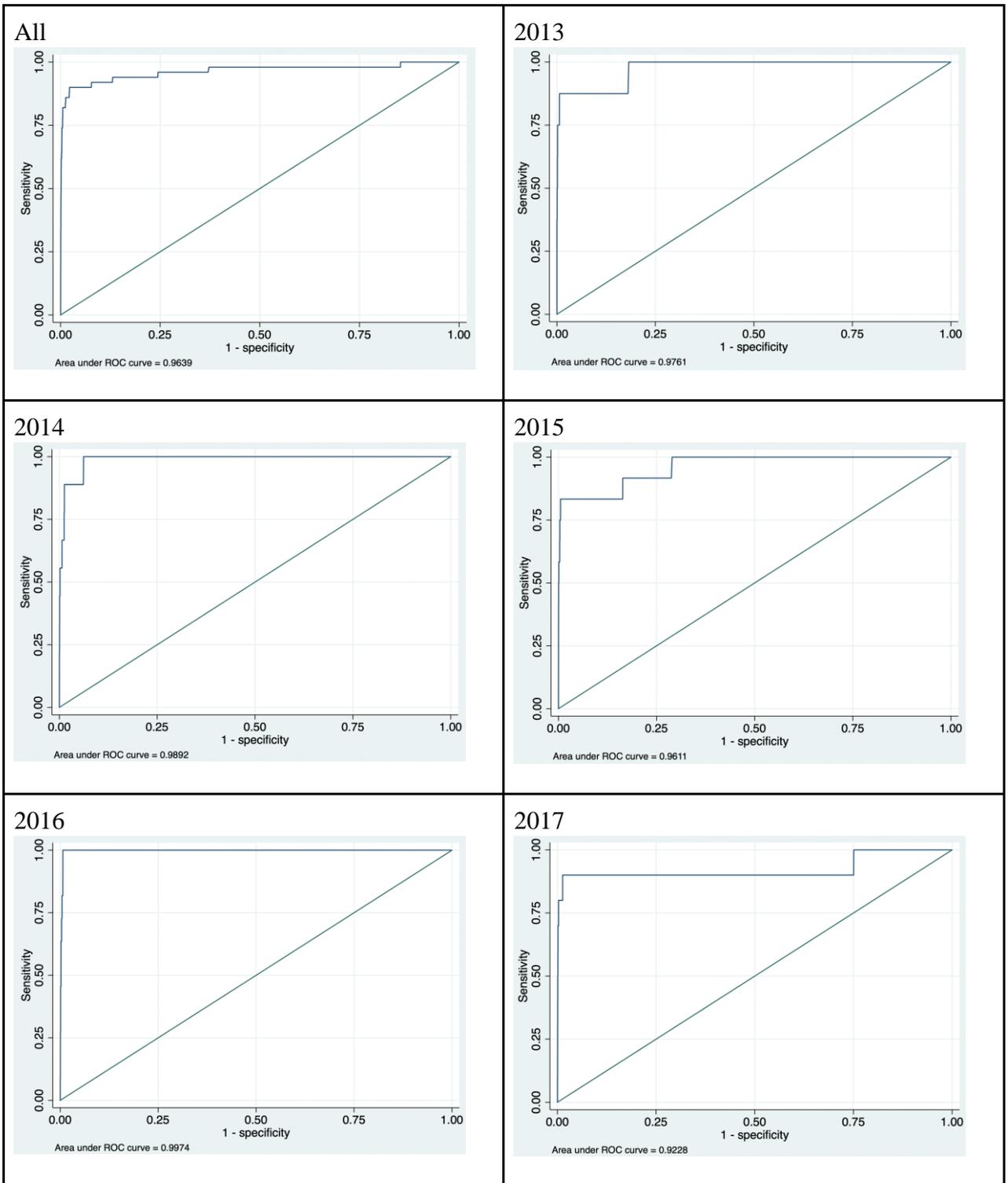
Durante os 5 anos do estudo foram avaliados os valores da primeira dosagem de TIR (TIR1) em 834,122 RNs. Observou-se que a coleta foi realizada com mediana (p25-p75) de idade de 8.0 (5.0 – 13.0) dias. A dosagem do segundo TIR (TIR2) foi avaliada em 3510 RNs com idade mediana (p25-p75) de coleta de 27 (22.0 – 33.0) dias. Para melhor análise da eficácia do modelo de TNFC empregado, os casos de perda de seguimento e óbito foram excluídos por não ser possível determinar o desfecho deles. A **tabela 1** apresenta os dados da acurácia do teste a cada ano e em 5 anos.

Tabela 1 - Avaliação da acurácia do teste de triagem neonatal para fibrose cística anualmente e de forma acumulada

<i>(N)</i>	2013	2014	2015	2016	2017	Total
<i>Triados</i>	144.090	170.482	177.998	171.032	176.578	840.976
<i>Falso positivo</i>	96	51	150	132	176	605
<i>Confirmado pela TNFC</i>	7	5	10	11	8	41
<i>Falso Negativo</i>	1	4	2	0	2	9
<i>Total de casos</i>	8	9	12	11	10	50
<i>Variáveis acurácia</i> <i>[% (IC 95% min – max)]</i>	2013	2014	2015	2016	2017	Total
<i>Sensibilidade</i>	87,5 (52.9-97.8)	55,6 (26.7-81.1)	83.33 (55.2-95.3)	100 (74.1-100)	80.0 (49.0-94.3)	82.0 (69.2-90.2)
<i>Especificidade</i>	99.93 (99.92-99.94)	99.96 (99.95-99.97)	99.92 (99.9-99.93)	99.92 (99.91 -99.93)	99.9 (99.9-99.91)	99.93 (99.92-99.93)
<i>VPP</i>	6.8 (3.3-13.4)	8.93 (3.87-19.26)	6.3 (3.43-11.12)	7.7 (4.3-13.3)	4.35 (2.22-8.34)	6.35 (4.7-8.5)
<i>VPN</i>	100 (100-100)	100 (99.99-100)	100 (100-100)	100 (100-100)	100 (100-100)	100 (100-100)
<i>Validade da TNFC</i>	99.93 (99.92-99.94)	99.96 (99.95-99.97)	99.91 (99.9-99.93)	99.92 (99.91-99.93)	99.9 (99.88-99.91)	99.3 (99.92-99.93)

Fonte: Autores

Em relação ao TIR1, notou-se que de forma isolada, a sua acurácia, com ponto de corte em 70 mg/dl, foi capaz de predizer a presença da doença foi de 99.45% (IC95%: 99.44% – 99.47%), com sensibilidade de 82.0% (IC 95%: 69.20% - 90.23%) e especificidade de 99.45% (IC 95%: 99.44% – 99.47%). A área sobe a curva (AUC - Area under Curve) observada foi de 0.9639 (IC95%: 0.9635-0.9643). A **figura 2** mostra a curva ROC para cada ano e para o intervalo acumulado de 5 anos.



Fonte: autores

Figura 2 – Curva ROC e Area Under Curve (AUC) para a primeira dosagem do tripsinogênio imunorreativo anualmente e de forma acumulada

Fonte: autores

A **tabela 2** mostra a sensibilidade, especificidade e o percentual e número absolutos de falsos positivos ao usar a estratégia usual (TIR1 > 70 ng/mL) e ao utilizarmos pontos de corte flutuantes, especificamente, os percentis 99.4; 99.5; 99.6; 99.7 e o índice Youden do TIR1 do ano anterior.

Observou-se que o desempenho do TIR1 com nenhum dos pontos de corte propostos se mostrou mais efetivo do que a estratégia com o ponto de corte fixado em 70 mg/dl, cuja especificidade e sensibilidade se encontraram maiores com a adoção de valores bem próximos a esse valor como determinado pelo índice Youden: 2013 (70.0 ng/ml), 2015 (70.4 ng/ml), e 2016 (71.3 ng/ml), E nos outros anos, esse valor foi menor do que o adotado, sendo indicado utilizarmos pontos de corte tão inferiores quanto 36,5 ng/ml (2014) e 59,7 ng/ml (2017).

Tabela 2 – Dados anuais da acurácia da primeira dosagem do Tripsinogênio imunorreativo com adoção de diferentes pontos de corte

Parâmetros	2013	2014^a	2015^b	2016^c	2017^d
	N=142,536	N=168,016	N=176,688	N=170,495	N=176,387
Identificados pela TNFC	7	5	10	11	8
Intervalo TIR 1 (Casos TNFC)	70.1 - 282.0	80.37 - 210.0	70.5 - 270.0	71.4 - 314.0	82.6 - 225.64
Identificado por suspeita clínica	1	4	2	0	2
Intervalo TIR1 (Falso-negativos)	30.6	36.6 - 58.9	19.8 - 23.97	NA	10.25 - 59.68
Intervalo TIR1 (todos)	0.01-356.0	0.23 - 801.0	0.14 - 827.0	0.41 - 451.0	0.08 - 599.0
TIR1 > 70 ng/mL					
Sensibilidade (%)	87.5 ^e	55.6	83.33	100.0	80.0
Especificidade (%)	99.35 ^e	99.75	99.47	99.26	99.43
Falso positivo (%)	0.65 ^e	0.25	0.53	0.74	0.57
Falso positivo (N)	923 ^e	417	940	1,268	1,004
TIR1 (ng/mL) > p99.4	71.60	60.10	66.29	74.4	68.35
Sensibilidade (%)	NA	55.56	83.33	100.0	80.0
Especificidade (%)	NA	99.77	99.09	99.08	99.57
Falso positivo (%)	NA	0.23	0.91	0.92	0.43
Falso positivo (N)	NA	393	1,599	1,562	760
TIR1 > p99.5	75.9	61.90	71.90	79.60	72.10
Sensibilidade (%)	NA	55.56	83.33	90.91	80.0
Especificidade (%)	NA	99.81	99.21	99.33	99.67
Falso positivo (%)	NA	0.19	0.79	0.67	0.33
Falso positivo (N)	NA	324	1,391	1,140	587
TIR1 > p99.6	80.9	63.60	77.8	85.6	76.20
Sensibilidade (%)	NA	55.56	83.33	81.82	70.0
Especificidade (%)	NA	99.84	99.30	99.47	99.74
Falso positivo (%)	NA	0.16	0.70	0.53	0.26
Falso positivo (N)	NA	277	1,235	906	454
TIR1 > p99.7	86.34	66.80	85.79	93.80	82.28
Sensibilidade (%)	NA	55.56	83.33	72.73	70.0
Especificidade (%)	NA	99.86	99.42	99.61	99.81
Falso positivo (%)	NA	0.14	0.58	0.39	0.19
Falso positivo (N)	NA	228	1,017	665	327
TIR1 > Índice de Youden	70.0	36.54	70.4	71.3	59.67
Sensibilidade (%)	NA	55.6	83.33	100.0	80.0
Especificidade (%)	NA	99.75	94.84	99.26	99.47
Falso positivo (%)	NA	0.25	5.16	0.74	0.53
Falso positivo (N)	NA	417	9,118	1,254	935

TNFC: Triagem neonatal para fibrose cística/ NA: não aplicável

^a O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR1 de 2013;

^b O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR1 de 2014;

^c O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR1 de 2015;

^d O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR1 de 2016;

^e Valor de acurácia calculado usando o valor de TIR1 de 2013

Fonte: autores

A **tabela 3** mostra a sensibilidade, especificidade e o percentual e número absolutos de falsos positivos ao se usar a estratégia adotada ($TIR2 > 70$ ng/mL), ao aumentar o ponto de corte ($TIR > 90$ ng/mL) e ao utilizarmos pontos de corte flutuantes, especificamente, os percentis 99.4; 99.5; 99.6; 99.7 e o índice Youden do TIR2 do ano anterior.

Para os valores de TIR2, a estratégia de utilizar o ponto de corte > 90 ng/mL apresentou o mesmo desempenho em relação à sensibilidade e especificidade, entretanto houve uma redução significativa do número de falsos positivos, consequentemente, reduzindo a necessidade de realização do teste do suor (**tabela 3**)

Observou-se que o desempenho do TIR2 se mostra mais efetivo com pontos de corte mais altos do que o que vem sendo utilizado, principalmente, reduzindo o percentual de falsos positivos. Devido à baixa frequência da doença e pelo quantitativo relativamente reduzido de amostras de TIR2, não foi possível obter esse dado em todos os anos, porém no ano em que foi possível ser extraído, observou-se valores de pontos de corte ideais determinados pelo índice de Youden de 116 ng/ml (2014), 97,6 ng/mL (2015) e 104 ng/mL (2017).

Tabela 3 – Dados anuais da acurácia da segunda dosagem do Tripsinogênio imunorreativo com adoção de diferentes pontos de corte

Parâmetros	2013	2014^a	2015^b	2016^c	2017^d
	N=655	N=356	N=636	N=1,002	N=858
Número de crianças com FC	3	3	4	0	2
Intervalo TIR2 (mín – máx)	6.19-410.5	0.19-492.0	1.59-385.0	1.92 - 671.0	1.15 – 273.0
TIR2 > 70 ng/mL					
Sensibilidade	100.0 ^e	100.0	100.0	NA	100.0
Especificidade	94.94 ^e	95.18	93.04	NA	94.86
Falso positivo (%)	5.6 ^e	4.82	6.96	NA	5.14
Falso positivo (N)	33 ^e	17	44	NA	44
TIR2 > 90 ng/mL					
Sensibilidade	100.0 ^e	100.0	100.0	NA	100.0
Especificidade	97.24 ^e	97.17	97.31	NA	96.85
Falso positivo (%)	2.76 ^e	2.83	2.69	NA	3.15
Falso positivo (N)	18 ^e	10	17	NA	27
TIR2 (ng/mL) > p99.4					
Sensibilidade	NA	33.3	75.0	NA	0
Especificidade	NA	98.87	99.37	NA	99.53
Falso positivo (%)	NA	1.13	0.63	NA	0.47
Falso positivo (N)	NA	4	4	NA	4
TIR2 (ng/mL) > p99.5					
Sensibilidade	NA	0	50.0	NA	0
Especificidade	NA	98.87	99.53	NA	99.65
Falso positivo (%)	NA	1.13	0.47	NA	0.35
Falso positivo (N)	NA	4	3	NA	3
TIR2 (ng/mL) > p99.6					
Sensibilidade	NA	0	25.0	NA	0
Especificidade	NA	99.15	99.84	NA	99.65
Falso positivo (%)	NA	0.85	0.16	NA	0.35
Falso positivo (N)	NA	3	1	NA	3
TIR2 (ng/mL) > p99.7					
Sensibilidade	NA	0	0	NA	0
Especificidade	NA	99.43	100.0	NA	99.88
Falso positivo (%)	NA	0.57	0	NA	0.12
Falso positivo (N)	NA	2	0	NA	1
TIR2 (ng/mL) > índice de Youden					
Sensibilidade	94.8	116	97.6	NA	104
Especificidade	NA	100.0	75.0	NA	100.0 ^f
Falso positivo (%)	NA	97.17	98.42	NA	97.31 ^f
Falso positivo (N)	NA	2.83	1.58	NA	2.69 ^f
Falso positivo (N)	NA	10	10	NA	23 ^f

NA: Não aplicável;

^a O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR2 de 2013;

^b O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR2 de 2014;

^c O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR2 de 2015;

^d O valor do percentil usado se refere ao valor do TIR2 de 2016;

^e Valor de acurácia calculado usando o valor de TIR2 de 2017;

^f Valor de acurácia calculado usando o Youden index do TIR2 obtido em 2015.

Fonte: autores

6 DISCUSSÃO

O estudo teve como propósito avaliar a acurácia do método TIR/TIR para fibrose cística, atualmente utilizado no estado da Bahia. Para isso, foram utilizados dados de 804.832 testes que foram submetidos à triagem nos anos de 2013 a 2017. Ao longo da análise do trabalho, foi percebido um baixo valor preditivo positivo entre os anos estudados. Além disso, notou-se que ao adotar o ponto de corte flutuante como estratégia para melhorar os indicadores de acurácia da TNFC, para o TIR 1 esse não retornou um valor diferente ao que já vinha em uso (70 ng/mL). Entretanto para o TIR 2 a adoção de um valor maior, de 90 ng/mL parece garantir a mesma sensibilidade e especificidade, além de uma melhora do VPP, com redução dos falsos positivos.

A análise dos resultados demonstrou um baixo valor preditivo positivo (VPP) do teste em todos os anos e quando avaliado os dados de forma acumulativa. Os baixos valores de VPP encontrados significam que a probabilidade que esse lactente tenha doença frente a uma TNFC positiva é muito pequena. Em outras palavras, significa encaminhamento de grande quantitativo de lactentes com TNFC positiva para a realização do TS de forma desnecessária (sem apresentarem a doença). O programa de triagem neonatal no Brasil é submetido a todos os RN do país, e é responsável por identificar a fibrose cística, dentre outras doenças ⁶. Porém, na medida em que a triagem para FC gera muitos falso-positivos, muitas famílias passam por transtornos, preocupações, angústias e gastos desnecessários, uma vez que o seu recém-nascido não é doente, mas o teste os faz suspeitar de uma doença grave e crônica ^{13,54}. Além disso, esse problema acarreta um gasto governamental prescindível pela quantidade de testes de suor realizados que não precisariam de fato serem feitos. A sociedade europeia de fibrose cística preconiza um valor preditivo positivo mínimo de 30% ⁴⁹, o que não é visto no modelo aplicado na Bahia.

Além disso, observa-se que ao longo dos anos a sensibilidade oscilou bastante, com valor acumulado de 82%, mas atingindo valores inaceitáveis como 55,6% em 2014. Valores de sensibilidade iguais a esses demonstram que esse a TNFC não apresenta uma boa capacidade de identificar pessoas que verdadeiramente tem a doença, aumentando a ocorrência de falso-negativos. No nosso estudo tivemos um percentual de 18% de crianças falso-negativas. Estudos demonstram que para a estratégia TIR/TIR esse número deveria estar entre 5 e 15% ¹¹. Essa grande quantidade de falso-negativos pode ter relação com a variedade étnica da população estudada, o que influencia nos valores de TIR em RN ^{38,55} e conseqüentemente com a baixa

prevalência da doença. Em um estudo argentino que avaliou a estratégia TIR/TIR, foi identificado 14% de falso-negativos, porém em amostra consideravelmente menor ⁴⁷. Já no estado do Colorado, Estados Unidos, que também utiliza o protocolo TIR/TIR, foi identificado 11% falsos negativos ³⁵. Já na Bahia, como dito anteriormente, o presente estudo identificou um total de 18% de falso-negativos dentre os diagnosticados, porcentagem maior quando comparado aos demais. A ocorrência de falso-negativos atrasa o diagnóstico da criança e é um problema significativo na triagem, uma vez que se torna necessário a espera da ocorrência de sintomas mais graves para chegar no diagnóstico. A demora da confirmação da doença piora o prognóstico dos lactentes com fibrose cística ⁵⁶, uma vez que ocorre a demora do tratamento, podendo apresentar bronquiectasia, infertilidade e insuficiência pancreática ⁵⁷.

Ao avaliar o ponto de corte do TIR1 e a possibilidade de um ponto de corte flutuante observou-se que os valores sugeridos não se mostraram mais eficazes em relação ao ponto de corte em uso. Possivelmente, a baixa prevalência da doença na população do estudo seja um dificultador da utilização do ponto de corte flutuante, uma vez que, principalmente ao utilizarmos períodos curtos para a adoção de novo ponto de corte, a probabilidade de não se ter triado nenhum lactente com FC é muito grande, impossibilitando o cálculo desse novo valor. Apesar de estudos apontarem que a utilização do ponto de corte flutuante minimiza problemas de variações de TIR, como no estado de Nova York ³⁴, isso não foi se aplica à Bahia. Percebe-se também que regiões com grandes variações de temperatura, como regiões temperadas, parecem se beneficiar mais com o ponto de corte flutuante ¹⁰, estar em uma zona tropical, não sofre grandes variações de temperatura ao longo do ano. Já outro trabalho, que apesar de não ter confirmado a interferência da temperatura em sua região, sugeriu uma avaliação anual do ponto de corte ³⁵. Essa sugestão, porém, como foi observado nesse estudo, não mostrou resultados satisfatórios.

Pelos dados encontrados ao analisarmos o índice de Youden como método para o ponto de corte mais eficaz do TIR1 anualmente, notou-se que em 2014 e 2017, esse valor é bem menor ao ponto fixo atual. Existe, assim, a possibilidade de redução do ponto de corte do TIR1, buscando melhorar principalmente a sensibilidade do teste, pela redução de falso-negativos. Trabalhos demonstram que locais que utilizam da mesma técnica TIR/TIR, apresentam pontos de corte menores, de 50 ng/mL, como Colorado e Buenos Aires ^{35,47}. Ademais, pesquisas apontam que outras técnicas, como TIR/TIR/DNA apresentam melhor sensibilidade e valor preditivo positivo quando comparada ao TIR/TIR, por apresentar valores de corte menores ³⁸. Em

Consonância a isso, um estudo belga, que avaliou o método TIR/PAP, também utilizou um ponto de corte fixo de 60 ng/ml ⁵⁸, que é menor do atual na Bahia 70 ng/mL.

Reduzir o ponto é uma boa forma de aumentar a sensibilidade ²⁹, reduzindo o número de falsos negativos. Em contrapartida, impera frisar que os estudos que utilizaram pontos de corte abaixo do atual na Bahia se restringem àquela população, e a qualidade do teste de triagem sofre influência pela população estudada e sua heterogeneidade ^{55,59}.

Outra observação que fora feita utilizando o índice de Youden foi com relação ao ponto de corte do TIR2. Em três dos anos avaliados, o ponto de corte se apresentou maior do que o atual utilizado. Tomando como base o ponto de corte para o TIR2 aumentado no índice, é possível pensar que o aumento dele da TNFC na Bahia pode ser benéfico para a população, reduzindo o número de falso-positivos. A redução de falso positivos, como comentado acima, diminui a ansiedade parental, bem como a necessidade de gastos desnecessários com o teste do suor ¹³. Também é importante recordar que alguns fatores podem aumentar o valor do TIR, erroneamente, como o peso ao nascimento, prematuridade ⁶⁰. Por isso o aumento ponto de corte do TIR2 pode trazer efeitos positivos no protocolo.

Como limitações do trabalho, existiu uma grande perda durante a triagem, entre as etapas de coletas do TIR1 e TIR2, uma vez que é necessário outra amostra para a avaliação do TIR2, o com aumento do risco de falhas na coleta, transporte, análise. Não só isso, mas também uma comunicação prejudicada entre a Associação dos Amigos e Pais dos Excepcionais de Salvador APAE e o centro de referência para o tratamento de fibrose cística (CRTFC), que, somado a um banco de dados não padronizado, dificultou a definição verdadeira dos desfechos. Além disso, outro fator limitante do trabalho se deveu ao uso de dados secundários retroativos, fora a perda de dados pelo protocolo da triagem. Para reduzir tais limitações, excluímos a perda de seguimento.

Uma possível alternativa para os problemas do método TIR/TIR são os investimentos em pesquisas com outros métodos de triagem como a TIR/PAP (proteína associada à pancreatite) na Bahia. Esse método tem mostrado com uma boa relação custo-efetividade ⁵⁴, uma vez que utiliza a mesma amostra de sangue coletada no primeiro teste, poupando os pais de retornarem ao centro para uma segunda coleta ³¹. Por isso, pode ser uma alternativa promissora ao teste de triagem neonatal para fibrose cística no Estado.

Outras regiões da América do Sul, como Uruguai, Chile e Argentina utilizam esse método ⁶¹. Uma comparação entre o TIR/TIR e o método TIR/PAP na Argentina demonstrou um aumento da sensibilidade e redução do número de falsos negativos ⁴⁷. Apesar disso, o estudo foi pequeno e reservado à população Argentina, necessitando de estudos específicos na Bahia, a fim de melhorar a acurácia do atual método de triagem neonatal para fibrose cística nesse estado brasileiro.

7 CONCLUSÃO

O atual protocolo de triagem para fibrose cística utilizado na população da Bahia apresenta uma baixa sensibilidade e um baixo valor preditivo positivo, além de ocasionar a ocorrência de considerável quantidade de falso-positivos e falso-negativos. Observou-se também que o ponto de corte flutuante não parece ser uma boa alternativa para a população estudada. Foi percebido que existe a possibilidade do estado se beneficiar com a mudança do ponto de corte do TIR2 de 70 para 90 ng/mL. Ainda deve-se avaliar uma possível redução do valor do TIR1, porém por esse estudo o valor não pode ser definido. O uso do método PAP é possivelmente um bom método de triagem para FC no estado estudado.

Faz-se necessários, futuramente, mais estudos que avaliem alternativas de triagem para a população baiana, levando em conta a prevalência da doença na região e as características gênicas e fenotípicas da população, encontrando assim o método com melhor custo-benefício.

Vale ressaltar que apesar de não ideal, o método em voga é eficaz e deve ser preservado com TNFC. A melhora da comunicação entre os centros envolvidos em cada etapa, bem como a realização de atividades de educação permanente, e a promoção e incentivo de estudos científicos para a avaliação da estratégia atual são ações importantes para que o aprimoramento contínuo da política pública possa ocorrer.

REFERÊNCIAS

1. Shulman LP, Elias S. mechanisms of disease Cystic Fibrosis. Clin Perinatol [Internet]. 2001;28(2):383–93. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra043184>
2. BRASIL M da S. Triagem Neonatal Biológica. Manual Técnico Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção a Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática [Internet]. 2016. 80 p. Available from: https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf
3. Kubota M. Newborn Screening: A Literature Review. Nippon rinsho Japanese journal of clinical medicine [Internet]. 2010;68 Suppl 8(2):189–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402600/>
4. Leão LL, Aguiar MJB de. Newborn screening: What pediatricians should know. J Pediatr (Rio J) [Internet]. 2008;84(4 SUPPL.):80–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18830514/>
5. Kaye CI, Schaefer GB, Bull MJ, Enns GM, Gruen JR, Hersh JH, et al. Newborn screening fact sheets. Pediatrics [Internet]. 2006;118(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16950973/>
6. BRASIL M da S. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Ministério da Saúde [Internet]. 1996. 2959–2962 p. Available from: https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal.pdf
7. Rodrigues R, Magalhaes PKR, Fernandes MIM, Gabetta CS, Ribeiro AF, Pedro KP, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis in São Paulo State, Brazil: A pilot study. Brazilian Journal of Medical and Biological Research [Internet]. 2009;42(10):973–8. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/YQjHJNkPKvWR4Xbr9Y6BYzv/?lang=en&format=pdf>
8. Athanzio RA, Silva Filho LVRF, Vergara AA, Et al. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of cystic fibrosis. Jornal Brasileiro de Pneumologia [Internet]. 2017;43(3):219–45. Available from: <https://www.scielo.br/j/jbpneu/a/CtkWJ8LjzyxPvKvLB5fGndC/?lang=en&format=pdf>
9. Rodrigues R, Pedro KP, Magalhães PKR. Cystic fibrosis and neonatal screening. Structure [Internet]. 2008;(Cdc):475–84. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18797725
10. Kloosterboer M, Hoffman G, Rock M, Gershan W, Laxova A, Li Z, et al. Clarification of laboratory and clinical variables that influence cystic fibrosis newborn screening with initial analysis of immunoreactive trypsinogen. Pediatrics [Internet]. 2009;123(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19171585/>
11. Therrell BL, Hannon WH, Hoffman G, Ojodu J, Farrell PM. Immunoreactive trypsinogen (IRT) as a biomarker for cystic fibrosis: Challenges in newborn dried blood spot screening. Mol Genet Metab [Internet]. 2012;106(1):1–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22425451/>
12. Rock MJ, Mischler EH, Farrell PM, Bruns WT, Hassemer DJ, Laessig RH. Immunoreactive trypsinogen screening for cystic fibrosis: Characterization of infants with a false-positive screening test. Pediatr Pulmonol [Internet]. 1989;6(1):42–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2704582/>

13. Hayeems RZ, Miller FA, Barg CJ, Bombard Y, Kerr E, Tam K, et al. Parent experience with false-positive newborn screening results for cystic fibrosis. *Pediatrics* [Internet]. 2016;138(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27485696/>
14. Godoy C, Paixão DC, Boa-Sorte NCA, Amorim T, da Silva Filho LVR, Souza EL. Five-year performance analysis of a cystic fibrosis newborn screening program in northeastern Brazil. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 2022;000(xxx). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35679883/>
15. Turcios NL. Cystic fibrosis lung disease: An overview. *Respir Care* [Internet]. 2020;65(2):233–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31772069/>
16. Ribeiro MNA, Coelho JLG, Almeida N dos S, Bernardo RV, Martins CFN, Ferreira EL, et al. Fibrose cística: histórico e principais meios para diagnóstico. *Research, Society and Development* [Internet]. 2021;10(3):e11710313075. Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13075>
17. De Boeck K. Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics* [Internet]. 2020;109(5):893–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31899933/#:~:text=Cystic%20fibrosis%20in%20the%20year%2020%3A%20A%20disease%20with%20a%20new%20face>
18. Chen Q, Shen Y, Zheng J. A review of cystic fibrosis: Basic and clinical aspects. *Animal Model Exp Med* [Internet]. 2021;4(3):220–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34557648/>
19. Pessoa IL, Guerra FQS, Menezes C pinheiro de. FIBROSE CÍSTICA : ASPECTOS GENÉTICOS , CLÍNICOS E DIAGNÓSTICOS [Internet]. 2015;11:30–6. Available from: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150802_182123.pdf
20. Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. *Lancet* [Internet]. 2003;361(9358):681–9. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)32542-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)32542-3/fulltext)
21. Farrell PM, Rock MJ, Baker MW. The impact of the CFTR gene discovery on cystic fibrosis diagnosis, counseling, and preventive therapy. *Genes (Basel)* [Internet]. 2020;11(4):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32276344/>
22. Lee JA, Cho A, Huang EN, Xu Y, Quach H, Hu J, et al. Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine [Internet]. *J Transl Med*. 2021;19(1):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34717671/>
23. Rosenfeld M, Sontag MK, Ren CL. Cystic Fibrosis Diagnosis and Newborn Screening. *Pediatr Clin North Am* [Internet]. 2016;63(4):599–615. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27469178/>
24. Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, Tamanini A, Assael BM. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res* [Internet]. 2018;4(2). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5909061/>
25. Coffey MJ, Whitaker V, Gentin N, Junek R, Shalhoub C, Nightingale S, et al. Differences in Outcomes between Early and Late Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Newborn Screening Era. *Journal of Pediatrics* [Internet]. 2017;181:137-145.e1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27837951/>
26. Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, Laxova A, Zeng L, Lai H chuan, et al. Early Diagnosis of Cystic Fibrosis Through Neonatal Screening Prevents [Internet]. 2001; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11134427/>

27. Crossley JR, Smith PA. Dried-blood Spot Screening for Cystic Fibrosis in The Newborn [Internet]. 1979;472–4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673679908250>
28. Levy H, Farrell PM. New challenges in the diagnosis and management of cystic fibrosis. *Journal of Pediatrics* [Internet]. 2015;166(6):1337–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26008169/>
29. Castellani C, Massie J, Sontag M, Southern KW. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2016;4(8):653–61. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00053-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00053-9)
30. Krulišová V, Balašěaková M, Skalická V, Piskáèková T, Holubová A, Paděrová J, et al. Prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in the Czech Republic: IRT/DNA/IRT versus IRT/PAP and IRT/PAP/DNA. *Eur J Pediatr* [Internet]. 2012;171(8):1223–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22581207/>
31. Sarles J, Giorgi R, Berthézène P, Munck A, Cheillan D, Dagorn JC, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: Comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2014;13(4):384–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2014.01.004>
32. Travert G, Heeley M, Heeley A. History of newborn screening for cystic fibrosis - The early years. *Int J Neonatal Screen* [Internet]. 2020;6(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7422985/>
33. Maciel LMZ, Magalhães PKR, Del Ciampo IRL, Barato de Sousa ML, Machado Fernandes MI, Sawamura R, et al. The first five-year evaluation of cystic fibrosis neonatal screening program in São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2020;36(10). Available from: <https://www.scielo.br/j/csp/a/K4jnG4bdBVK5pMqj4XxbnhJ/?lang=en>
34. Kay DM, Maloney B, Hamel R, Pearce M, Demartino L, McMahon R, et al. Screening for cystic fibrosis in New York State : considerations for algorithm improvements [Internet]. 2016;181–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26293390/>
35. Martiniano SL, Croak K, Bonn G, Sontag MK, Sagel SD. Improving outcomes for Colorado’s IRT-IRT-DNA cystic fibrosis newborn screening algorithm by implementing floating cutoffs. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2021;134(1–2):65–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.08.005>
36. Bienvenu T, Lopez M, Girodon E. Molecular diagnosis and genetic counseling of cystic fibrosis and related disorders: New challenges. *Genes (Basel)* [Internet]. 2020;11(6):1–16. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/11/6/619>
37. Caggana M. Newborn screening for cystic fibrosis: can one algorithm fit all? *Expert Rev Mol Diagn* [Internet]. 2017;17(3):205–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14737159.2017.1288100>
38. Sontag MK, Lee R, Wright D, Freedenberg D, Sagel SD. Improving the Sensitivity and Positive Predictive Value in a Cystic Fibrosis Newborn Screening Program Using a Repeat Immunoreactive Trypsinogen and Genetic Analysis. *Journal of Pediatrics* [Internet]. 2016;175:150-158.e1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27131402/>
39. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Caldeira Reis F, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2008;7(1):15–22. Available

from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17544945/#:~:text=For%20the%20five%20different%20states,births%20and%202.3%25%2C%20respectively.>

40. Lima E da S, Pezzin LS, Fensterseifer AC, Pinto LA. Frequency of CFTR variants in southern Brazil and indication for modulators therapy in patients with cystic fibrosis. *Genet Mol Biol* [Internet]. 2022;45(1):1–6. Available from: <https://www.scielo.br/j/gmb/a/qgY5rMVBdW3ZWjCWJbWGkVb/>
41. Perone C, Medeiros GS, del Castillo DM, de Aguiar MJB, Januário JN. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* [Internet]. 2010;43(2):134–8. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjmb/a/wZFmsQvnNqrcCCLkRZm7XZh/abstract/?lang=en>
42. Marson FA de L, Bertuzzo CS, Ribeiro MAG de O, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Screening for F508del as a first step in the molecular diagnosis of cystic fibrosis. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* [Internet]. 2013;39(3):306–16. Available from: <https://www.scielo.br/j/jbpneu/a/Twn7nZ38V4HDrDRgCGP49BD/?lang=en>
43. Gammiero A. Evaluación de diferentes algoritmos de sustituciones sucesivas para el cálculo de equilibrio líquido-vapor con ecuaciones de estado. *Revista de la Facultad de Ingeniería* [Internet]. 2013;28(2):101–16. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-40652013000200009
44. Sommerburg O, Hammermann J. Pancreatitis-associated protein in neonatal screening for cystic fibrosis: strengths and weaknesses. *Int J Neonatal Screen* [Internet]. 2020;6(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33073025/>
45. Seror V, Cao C, Roussey M, Giorgi R. PAP assays in newborn screening for cystic fibrosis: A population-based cost-effectiveness study. *J Med Screen* [Internet]. 2016;23(2):62–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26304152/>
46. Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, Kohlmüller D, Leible S, Feneberg R, et al. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population. *J Inher Metab Dis* [Internet]. 2010;33(SUPPL. 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20714932/>
47. Teper A, Smithuis F, Rodríguez V, Salvaggio O, Maccallini G, Aranda C, et al. Comparison between two newborn screening strategies for cystic fibrosis in Argentina: IRT/IRT versus IRT/PAP. *Pediatr Pulmonol* [Internet]. 2021;56(1):113–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33095477/>
48. Maciel LMZ, Magalhães PKR, del Ciampo IRL, Barato de Sousa ML, Machado Fernandes MI, Sawamura R, et al. The first five-year evaluation of cystic fibrosis neonatal screening program in São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2020;36(10). Available from: <https://www.scielo.br/j/csp/a/K4jnG4bdBVK5pMqj4XxbnhJ/?lang=en>
49. Scotet V, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn screening for CF across the globe-where is it worthwhile? *Int J Neonatal Screen* [Internet]. 2020;6(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7422974/#:~:text=The%20expansion%20of%20CF%20NBS,this%20screening%20is%20considered%20worthwhile.>

50. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, et al. Cystic fibrosis: Terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* [Internet]. 2006;61(7):627–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16384879/>
51. TabNet Win32 3.0: Nascidos vivos - Bahia [Internet]. [citado 2021 jul 20]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nvba.def>
52. Luthar S, Cicchetti D, Becker B. Youden Index and Optimal Cut-Point Estimated from Observations Affected by a Lower Limit of Detection. *Child Dev* [Internet]. 2000;73(3):543–562. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18435502/>
53. Schmidt M, Werbrouck A, Verhaeghe N, De Wachter E, Simoens S, Annemans L, et al. Strategies for newborn screening for cystic fibrosis: A systematic review of health economic evaluations. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2018;17(3):306–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29572018/>
54. Giusti R, Comber P, Germana J, Ting A, Quittell L, Berdella M, et al. Elevated IRT levels in African-American infants: Implications for newborn screening in an ethnically diverse population. *Pediatr Pulmonol* [Internet]. 2008;43(7):638–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18500736/>
55. Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, Macek M, Madge S, Davies JC, et al. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2020;8(1):65–124. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31570318/>
56. Castellani C, Linnane B, Pranke I, Cresta F, Sermet-Gaudelus I, Peckham D. Cystic Fibrosis Diagnosis in Newborns, Children, and Adults. *Semin Respir Crit Care Med* [Internet]. 2019;40(6):701–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31679154/>
57. Schmidt M, Werbrouck A, Verhaeghe N, de Wachter E, Simoens S, Annemans L, et al. A model-based economic evaluation of four newborn screening strategies for cystic fibrosis in Flanders, Belgium. *Acta Clinica Belgica: International Journal of Clinical and Laboratory Medicine* [Internet]. 2020;75(3):212–20. Available from: <https://doi.org/10.1080/17843286.2019.1604472>
58. Stewart C, Pepper MS. Cystic fibrosis in the African diaspora. *Ann Am Thorac Soc* [Internet]. 2017;14(1):1–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27870577/>
59. Sadik I, de Algaba IP, Jiménez R, Benito C, Blasco-Alonso J, Caro P, et al. Initial evaluation of prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in eastern Andalusia: IRT/IRT versus IRT/PAP/IRT. *Int J Neonatal Screen* [Internet]. 2019;5(3):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33072991/>
60. Brockow I, Nennstiel U. Newborn screening for cystic fibrosis. Vol. 61, *Tagliche Praxis* [Internet]. 2020. 418–426 p. Available from: <https://www.mdpi.com/books/pdfdownload/book/2841>