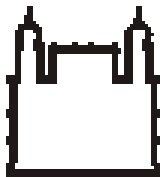


Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Fernandes Figueira  
Pós Graduação em Saúde da Criança e da Mulher

**REPRODUTIBILIDADE E VALIDADE DO TESTE DO SUOR  
PELA CONDUTIVIDADE NO DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA  
EM CENTRO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha**

**Rio de Janeiro  
Março, 2011**



Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Fernandes Figueira  
Pós Graduação em Saúde da Criança e da Mulher

**REPRODUTIBILIDADE E VALIDADE DO TESTE DO SUOR  
PELA CONDUTIVIDADE NO DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA  
EM CENTRO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha**

Dissertação de Mestrado apresentada à  
Pós-Graduação em Saúde da Criança e da  
Mulher, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Maria Virginia Marques Peixoto

Co-orientadora: Ana Claudia de Almeida

**Rio de Janeiro  
Março, 2011**

## DEDICATÓRIA

Ao meu avô, Hélio (*in memoriam*), pelos valiosos ensinamentos que formaram os alicerces da minha história.

À minha avó, Rosalina (*in memoriam*), pela sua humildade, pela sua alegria de viver e pelo seu modo, sempre positivo, de lidar diante dos acontecimentos da vida.

Aos meus pais, Heloína e Ewaldo, por todo incentivo ao longo desta trajetória.

Ao meu marido, Alexandre, que esteve sempre ao meu lado, por todo seu amor, apoio, compreensão e companheirismo.

Aos meus filhos, Maria Clara e João Guilherme, que são a razão da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras, Dra. Maria Virgínia Marques Peixoto e Ana Claudia de Almeida, por acreditarem no futuro deste projeto e me mostrarem o caminho da ciência e da pesquisa.

À chefe do serviço de Pneumologia do IFF, Dra. Laurinda Higa, pelo constante aprendizado.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Fabíola Villac Adde, Dra. Ana Maria Aranha Magalhães Costa e Dra. Eloane Gonçalves Ramos, por contribuírem com seus conhecimentos para meu crescimento profissional.

À médica Ana Claudia Mattar, por sua valiosa ajuda em meu treinamento.

Aos funcionários do Arquivo Médico do IFF, e em especial, ao profissional Thiago David Villela, por sua imensa boa vontade em fornecer os prontuários, e à secretária Mabel Alves de Souza, pelas frequentes palavras de incentivo.

Aos funcionários do Laboratório do IFF, e em especial, à Rosilda Penha dos Santos, que ajudaram na realização deste trabalho.

Aos médicos do serviço de Pneumologia do IFF, por compartilhar seus conhecimentos, e em especial, à Dra. Izabela Sad, por dividir comigo seu local de trabalho.

À secretária do serviço de Pneumologia, Alice Takitani, por todo o carinho e atenção.

Aos meus amigos, e em especial, à minha grande amiga, Juliana Duval Brigido, pelo constante incentivo.

À minha família, pelo carinho, paciência e apoio.

À Deus, por me amparar em todos os momentos e me dar força para superar as dificuldades.

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

BD	Braço Direito
BE	Braço Esquerdo
CFF	<i>Cystic Fibrosis Foundation</i>
Cl <sup>-</sup>	Cloreto
CRFC	Centro de Referência em Fibrose Cística
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
DPN	Diferença de potencial nasal
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro
FC	Fibrose Cística
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IC	Intervalo de Confiança
IFF	Instituto Fernandes Figueira
Na <sup>+</sup>	sódio
NaCl	cloreto de sódio
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
PDTSP	Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde Pública
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
RN	Recém-nascido
SUS	Sistema Único de Saúde
TIR	Tripsina imunorreativa
TS	Teste do Suor
TSCI	Teste do Suor pela dosagem de cloreto
TSCo	Teste do Suor pela condutividade

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Figura 1.1</b> - Diagramas ilustrando etapas sucessivas no desenvolvimento de uma glândula sudorípara. Retirada e adaptada de Moore e Persaud, 1994, página 409.	14
<b>Figura 1.2</b> - Concentração de sódio e cloro no suor de pacientes FC e não-FC. Retirada e adaptada de Bijman e Quinton, 1984.	15
<b>Figura 1.3</b> - Diagrama de dois componentes e de duas etapas presentes no modelo de Schwartz-Thaysen de secreção da glândula exócrina que explica a composição final do fluido excretado da glândula. Retirada e adaptada de Quinton, 2007.	16
<b>Capítulo 3</b>	
<b>Figura 3.1</b> - Histograma da medida de condutividade (mmol/l) do teste do suor no braço direito por categoria diagnóstica – FC e suspeito – em 129 pacientes atendidos no Centro de Referência em FC do Estado do Rio de Janeiro, 2010	65
<b>Figura 3.2</b> - Diagrama de dispersão entre os valores da condutividade medidos no braço direito e no braço esquerdo de 81 pacientes atendidos no Centro de Referência em Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro, 2010	65
<b>Figura 3.3</b> - Gráfico de Bland –Altman da média da diferença entre a condutividade de braço direito e braço esquerdo pela média das duas medidas em 81 pacientes atendidos no Centro de Referência em Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro, 2010	66
<b>Figura 3.4</b> - Histograma da diferença entre a medida de condutividade (mmol/l) em braço direito e braço esquerdo por categoria diagnóstica – FC e suspeito em 81 pacientes atendidos no Centro de Referência em Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro, 2010	66
<b>Figura 3.5</b> - Diagrama de dispersão e reta da regressão linear entre as medidas do teste do suor pela dosagem quantitativa cloreto e pela condutividade (mmol/l) em braço direito por categoria diagnóstica – FC e suspeito – em 129 pacientes atendidos no Centro de Referência em FC do Estado do Rio de Janeiro, 2010	67

**LISTA DE QUADROS**

	<b>Página</b>
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Quadro 1.1</b> - Estudos comparativos entre a dosagem quantitativa de cloreto e a condutividade	34 - 36

## LISTA DE TABELAS

Página

### Capítulo 3

**Tabela 3.1** - Características demográficas e valores do teste do suor pela condutividade e pela dosagem quantitativa do cloreto de 129 pacientes atendidos no Centro de Referência em Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro, 2010

64



## RESUMO

O teste do suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos, descrito em 1959 por Gibson e Cooke, até hoje é considerado o padrão-ouro para diagnóstico da Fibrose Cística. No entanto, essa técnica é trabalhosa e requer equipe profissional experiente e capacitada para realizar corretamente as etapas do teste, que incluem evitar a evaporação do suor durante a coleta, determinar o peso exato do suor através de balança analítica, ter cuidados com a diluição do suor na análise bioquímica. Devido à complexidade da realização do teste do suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos, esse procedimento torna-se mais suscetível a erros, e técnicas alternativas têm sido introduzidas visando a simplificar a coleta e a análise das amostras de suor. Uma delas é a coleta do suor pelo sistema Macroduct<sup>®</sup>, através do qual o suor é coletado para dentro de um espiral de plástico após a estimulação pela iontoforese por pilocarpina. A pesagem e o risco de evaporação são, então, eliminados uma vez que se trata de um sistema fechado. O suor coletado pode ter sua composição iônica analisada posteriormente por técnicas bioquímicas habituais, ou pode ser colocado no aparelho medidor de condutividade que fornece imediatamente o valor da condutividade do suor. Embora a *Cystic Fibrosis Foundation* aceite as técnicas de estimulação e de coleta do suor através do sistema Macroduct<sup>®</sup> do teste do suor pela condutividade como etapas do teste diagnóstico, a análise do suor pela mensuração da condutividade é somente aceita como teste de triagem. Todavia, há estudos que mostraram que o teste do suor pela condutividade pode ser aplicável no diagnóstico da Fibrose Cística. Diante dessa questão, respeitando o consenso sobre a indicação de cada uma das técnicas do teste do suor, estudamos a reprodutibilidade e a validade do teste do suor pela condutividade no Instituto Fernandes Figueira – IFF, Centro de Referência de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

**Palavras-chave:** Fibrose Cística; teste do suor; condutividade; reprodutibilidade; validade

## ABSTRACT

The sweat test for the quantitative measurement of electrolytes described in 1959 by Gibson and Cooke, today is considered the gold standard for diagnosis of CF. However, this technique is labor intensive and requires experienced and skilled professional staff to successfully execute the test steps, which include avoiding the evaporation of sweat during the collection, determine the exact weight through sweat analytical balance, be careful with the dilution of sweat on biochemical analysis. Due to the complexity of testing for the quantitative measurement of sweat electrolytes, this procedure becomes more susceptible to errors and alternative techniques have been introduced to simplify the collection and analysis of samples of sweat. One is the Macroduct<sup>®</sup> system,

through which the sweat is collected into a plastic spiral after stimulation by pilocarpine iontophoresis. Then, the weighing and the risk of evaporation are removed by a closed system. Sweat collected may have its ionic composition analyzed later by the usual biochemical techniques, or can be placed in the conductivity meter that provides immediate value of the conductivity of sweat. Although the Cystic Fibrosis Foundation accepted techniques of stimulation and sweat collection by Macroduct® system through the sweat test conductivity as the steps of the diagnostic test, sweat analysis by measuring the conductivity is only accepted as a screening test. However, studies have shown that the conductivity sweat test can be applied in the diagnosis of CF. Faced with this question, respecting consensus on the indication of each of the sweat test techniques, we studied the reproductibility and validity of the sweat test conductivity at Instituto Fernandes Figueira - IFF, Reference Center for Cystic Fibrosis of the State of Rio de Janeiro.

**Keywords:** Cystic Fibrosis; sweat test; conductivity; reproductibility; validity

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1 – Introdução, Justificativa e Referencial Teórico</b>	<b>Página</b>
1.1 Introdução	1
1.2 Justificativa	4
1.3 Referencial Teórico	7
1.3.1 Histórico	7
1.3.2 Definição	9
1.3.3 Epidemiologia	9
1.3.4 Genética	11
1.3.5 Glândula Sudorípara	14
1.3.5.1 Embriologia	14
1.3.5.2 Fisiologia	15
1.3.6 Testes Diagnósticos	17
1.3.6.1 Teste Genético	18
1.3.6.2 Medida da Diferença de Potencial Nasal	18
1.3.6.3 Testes do Suor	20
1.3.6.3.1 Teste do Suor pela Dosagem Quantitativa de eletrólitos	20
1.3.6.3.2 Teste do Suor pela Condutividade	27
1.3.6.3.3 Desempenho do Teste da Condutividade na Fibrose Cística	30
 <b>Capítulo 2 – Hipóteses, Objetivos e Aspectos Éticos</b>	
2.1 Hipóteses	37
2.2 Objetivos	37
2.2.1 Objetivo Geral	37
2.2.2 Objetivos Específicos	37
2.3 Aspectos Éticos	38
 <b>Capítulo 3 – Artigo</b>	
3.1 Resumo	40
3.2 Abstract	40
3.3 Introdução	42
3.4 Métodos	43
3.4.1 Materiais	44
3.4.2 Reprodutibilidade do Teste	45
3.4.3 Validade do Teste	45

3.4.4 Análise dos Dados	46
3.5 Resultados	48
3.6 Discussão	51
3.6.1 Estudo da Reprodutibilidade	53
3.6.2 Estudo da Validade	54
3.7 Conclusão	59
3.8 Referências Bibliográficas	60
3.9 Tabela e Figuras	64
<b>Capítulo 4 – Considerações Finais</b>	<b>68</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>69</b>
<b>Anexo 1 – Parecer de Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa</b>	<b>75</b>
<b>Apêndices</b>	
Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	76
Apêndice 2 – Procedimentos Operacionais Padrão	78
Apêndice 3 – Resultados Complementares	92

## APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado aborda a reprodutibilidade e a validade do teste do suor pela condutividade. Sua apresentação é composta por quatro capítulos, um anexo e quatro apêndices. O Capítulo 1 contém a introdução, a justificativa e o referencial teórico. No Capítulo 2, estão descritos os objetivos, as hipóteses e os aspectos éticos. O Capítulo 3 é apresentado em formato de artigo científico, composto por resumo, introdução, métodos, resultados e discussão, que será submetido à publicação no *Jornal de Pediatria*. No Capítulo 4, são feitas as considerações finais. Em seguida, são apresentadas as referências bibliográficas da dissertação, o Anexo 1, que contém o Parecer de Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa e os Apêndices 1, 2 e 3, com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os Procedimentos Operacionais Padrão e os resultados complementares, respectivamente.



## Capítulo 1 – Introdução, Justificativa e Referencial Teórico

### 1.1 - Introdução

A Fibrose Cística (FC) ou mucoviscidose é uma doença autossômica recessiva mais frequente nos descendentes caucasianos, com estimativa de incidência de 1:2500 nascidos vivos (Welsh et al., 2001). Essa é uma doença genética cujas mutações no gene que codifica a proteína reguladora da condutância transmembrana, *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR) são responsáveis por suas características fisiopatológicas (Tsui et al., 1991).

A partir da década de 90, a ênfase das investigações em FC se concentrou na busca do diagnóstico precoce e do tratamento agressivo a fim de reduzir danos irreversíveis e melhorar a qualidade de vida (Lyczac et al., 2002).

Nos centros de referência de FC internacionais e no Brasil, os programas de triagem neonatal buscam uma abrangência regional e/ou nacional de cobertura. É reconhecido que a realização do diagnóstico precoce implica em início do tratamento, previne o comprometimento do estado nutricional e melhora o desenvolvimento da criança com FC (Farrell et al., 2008). Além disso, para fins de estudos epidemiológicos, detectar o paciente com FC em sua fase assintomática possibilita uma melhor compreensão da história natural da doença (Castellani, 2003).

Nos países desenvolvidos, a maioria dos pacientes tem diagnóstico firmado antes dos dois anos de idade. No Brasil, quando o diagnóstico é feito pela manifestação clínica, excetuando-se o íleo meconial, 40 a 50% dos casos são diagnosticados após três anos de idade (Alvarez et al., 2004; Reis et al., 2000). Quando os primeiros pacientes com FC foram reconhecidos, a quase totalidade falecia ainda no primeiro ano de vida.

Atualmente, com o diagnóstico precoce, com o manejo multiprofissional em centros especializados e com o acesso à terapêutica adequada, cerca da metade dos pacientes sobrevive à terceira década de vida. Nos últimos 30 anos, nenhuma outra doença mobilizou os familiares de forma tão organizada, a ponto de constituírem associações de pais na Europa, nas Américas e, inclusive, no Brasil, desempenhando um importante papel na evolução da FC (Ribeiro et al., 2002).

Os critérios diagnósticos da FC estão baseados na presença de características fenotípicas da doença e na anormalidade da CFTR que pode ser demonstrada pela análise genética, pela medida de diferença de potencial nasal (DPN) e pela concentração aumentada de eletrólitos no suor (Rosenstein e Cutting, 1998; Farrell et al., 2008). Estas duas medidas traduzem o grau da disfunção da proteína reguladora da condutância transmembrana da FC. O estudo genético das mutações da FC é um método de custo elevado e, mesmo com um resultado de mutação ainda não identificado, o diagnóstico de FC não é descartado, uma vez que podemos estar diante de mutações mais raras, que não são rotineiramente pesquisadas nos painéis que estudam as mutações da FC.

A dosagem quantitativa de eletrólitos no suor (TSCI), estimulado e coletado pela técnica de Gibson & Cooke (Gibson e Cooke, 1959), continua sendo considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico da FC (De Boeck et al., 2006; Farrell et al., 2008). No entanto, é uma técnica trabalhosa que requer o cuidado para evitar a evaporação do suor durante a coleta e a determinação do peso exato do suor através de balança analítica de precisão. A análise bioquímica dos eletrólitos da amostra de suor, especialmente a concentração do cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), é também uma técnica complexa. Dessa maneira, o procedimento torna-se mais suscetível a erros, acarretando resultados falso-positivos e falso-negativos, caso não seja realizado por equipe profissional experiente e com treinamento especializado em todas as etapas do teste (LeGrys e Wood, 1988;



LeGrys, 1996; LeGrys, 2000). Sendo assim, pelo fato do TSCI estar sujeito a variabilidade, técnicas alternativas têm sido introduzidas visando a simplificar a coleta e a análise das amostras de suor. Uma delas é a coleta do suor pelo sistema Macroduct<sup>®</sup> (Macroduct, 2011), através do qual o suor é coletado para dentro de um espiral de plástico após a estimulação pela iontoforese por pilocarpina. A pesagem e o risco de evaporação são então eliminados por se tratar de um sistema fechado. O suor coletado pode ter sua composição iônica analisada posteriormente por técnicas bioquímicas habituais, ou pode ser colocado no aparelho medidor de condutividade – Sweat-Chek Analyzer – Wescor<sup>®</sup>, que fornece imediatamente o valor da condutividade do suor (LeGrys et al., 2007; Mishra et al., 2005).

A estimulação por iontoforese com pilocarpina, a coleta pelo sistema Macroduct<sup>®</sup> e a análise pelo Sweat- Chek Analyzer- Wescor<sup>®</sup>, no âmbito deste trabalho, passa a ser denominado teste do suor pela medida da condutividade (TSCo) . O TSCo vem sendo utilizado, principalmente, por ser mais simples e por necessitar de amostras menores de suor para leitura do resultado (Sweat Test Guidelines, 2003).

Embora a *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF) aceite as técnicas de estimulação e de coleta do suor pelo sistema Macroduct<sup>®</sup> do TSCo como etapas do teste diagnóstico, a análise do suor pela leitura da condutividade é somente aceita como teste de triagem (LeGrys et al., 2007). No entanto, há estudos que mostraram que o TSCo pode ser aplicável no diagnóstico da FC (Hammond et al., 1994; Lezana et al., 2003). Este argumento ganha força pelas características do TSCo. Entre suas vantagens estão a redução dos fatores de erro relacionados à técnica e ao operador, tais como evitar a evaporação, eliminar erros nas etapas de pesagem do papel-filtro e da diluição da amostra do suor, entre outros, e permitir um resultado em menor tempo, com a mensuração imediata da condutividade (Hammond et al., 1994). No entanto, há

desvantagens, como o custo do exame e a taxa de coleta de volume insuficiente do suor, que foi de 6,1% no estudo de Hammond e colaboradores (1994), e de 9,1% no estudo de Mastella e colaboradores (2000).

O número limitado de laboratórios que disponibilizam o TSCI também contribui para uma maior necessidade de qualificação técnica para realizá-lo e reforça a necessidade de implantação de um teste mais simples, como o TSCo (LeGrys, 2000).

Neste momento, em que a controvérsia persiste, respeitando o consenso sobre a indicação de cada uma das técnicas do teste do suor, estudamos a reprodutibilidade e a validade do TSCo no Instituto Fernandes Figueira (IFF), Centro de Referência de Fibrose Cística (CRFC) no Estado do Rio de Janeiro.

## **1.2 – Justificativa**

O avanço do desenvolvimento científico e tecnológico e o impacto que as tecnologias provocam à saúde e à integralidade da assistência são atributos do Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, o SUS também é responsável por gerir sistemas públicos de alta complexidade, de referência estadual e regional na área da saúde (Lein°8080, 1990).

A cobertura com qualidade e agilidade, com adequada integração entre rede básica e centro de referência, é fundamental para o bom andamento de programas de triagem (Aguiar, 2002). Os laboratórios regionais de referência devem ter supervisão estadual ou regional e devem estar vinculados à rede de atenção primária, com suporte clínico de centros de referência. A supervisão global deve estar sob responsabilidade do grupo técnico de assessoramento em triagem neonatal, instituído pela Secretaria de Assistência à Saúde, portaria MS/SAS nº189 (Ministério da Saúde, 2001). O seguimento desse modelo permite a otimização da triagem neonatal, com detecção

precoce dos afetados e instituição eficaz de terapêutica, resultando em ações efetivas para a prevenção de complicações (Horovitz et al., 2005).

A triagem neonatal tem como objetivos ofertar exame de cunho universal e voluntário para captar os bebês que têm risco de ter a doença, possibilitar diagnóstico precoce, acompanhamento e tratamento adequado em centro de referência, e aumentar a sobrevivência. Pela portaria GM/MS nº 822 de 06/06/2001 (Ministério da Saúde, 2001) foi determinada a criação do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). AFASE III do PNTN inclui o rastreio da FC através da dosagem da tripsina imunorreativa (TIR) no sangue. Diante de um resultado positivo, o exame deve ser repetido até o 28º dia de vida, e, caso o resultado novamente seja positivo, a criança deve ser encaminhada ao centro de referência de seu estado para a realização do teste do TSCI.

Desde a padronização do teste do suor por Gibson & Cooke em 1959, têm surgido novos métodos de coleta e análise do suor (Barben et al., 2005; Hammond et al., 1994). Os primeiros relatos de técnicas alternativas de coleta do suor foram descritos no fim da década de 60. No final da década de 70, em 1978, foi introduzido no mercado o modelo 3500 do sistema coletor de suor Webster (Webster e Barlow, 1981). E em 1983 foi lançado o dispositivo de coleta Macroduct®, modelo 3600 do sistema coletor de suor Macroduct®, o que representou grande avanço na ciência por não alterar a composição do suor ao evitar a evaporação da amostra (Carter et al., 1984). Este sistema também possibilita a quantificação do volume de suor durante toda a fase de coleta.

Atualmente, as etapas de estimulação e coleta realizada pelo sistema Macroduct® são reconhecidas internacionalmente e têm sido amplamente utilizadas tanto para triagem como para diagnóstico. Todavia, a CFF e o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) reconhecem a análise da condutividade apenas para a triagem para FC.

Concomitantemente, o Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade que enfatiza a importância da utilização das novas tecnologias na área da saúde, ampliando a adoção de protocolos clínicos, foi assumido pelo setor saúde. Nesta vertente, o presente projeto faz parte de dois projetos maiores de tecnologias diagnósticas da FC para a rede SUS: “Desenvolvimento e Avaliação de Tecnologias de Diagnóstico da Fibrose Cística para o SUS”, que recebeu apoio financeiro da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) através do Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde Pública (PDTSP), no período de 2007 a 2010; e “Desenvolvimento e Avaliação de Tecnologias de Diagnóstico Clínico e Molecular da Fibrose Cística” - EDITAL PENSA RIO, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), no período de 2007 a 2009.

O IFF, unidade da FIOCRUZ, que está vinculado ao Ministério da Saúde, é o principal centro de referência para diagnóstico e seguimento dos pacientes com FC até os 18 anos no estado do Rio de Janeiro. Uma vez que existe a portaria do Ministério da Saúde, de 2001, que recomenda a implantação do PNTN, os CRFC necessitam estar suficientemente organizados para atender a uma maior demanda de pacientes com suspeita de FC. Diante de tal fato, o TSCo pode desempenhar uma importante etapa no diagnóstico da FC em CRFC.

O diagnóstico mais precoce resultante da implantação da FASE III do PNTN e da incorporação de novas tecnologias nos CRFC permitirá a adoção de medidas terapêuticas e de reabilitação e o consequente aumento da sobrevivência desta população.

### 1.3 – Referencial Teórico

#### 1.3.1 - Histórico

Nos séculos XVII e XVIII, mais precisamente em 1606, na Espanha, Alonso y de losRuyzes de Fonteca descreveu, pela primeira vez, que crianças com suor salgado morriam precocemente: “a criança que tem sabor salgado, quando beijada, morrerá logo” (*Apud* Quinton, 2007).

Três séculos mais tarde, em 1905, Landsteiner publicou a primeira descrição anatomopatológica do íleo meconial em um recém-nascido (RN) e associou a presença deste com a insuficiência pancreática exócrina. Em 1936, Fanconi descreveu a FC como uma doença caracterizada por bronquiectasias, associadas a alterações pancreáticas exócrinas e, portanto, com características clínicas diferentes de pacientes com doença celíaca. Nessa mesma época, em 1938, Dorothy Andersen descreveu a doença como "fibrose cística do pâncreas", condição na qual a obstrução nos ductos pancreáticos levava à insuficiência pancreática exócrina e à desnutrição, implicando em prognóstico quase sempre fatal no primeiro ano de vida. Descreveu, também, as características clínicas, anatomopatológicas e epidemiológicas, além de fazer considerações sobre o caráter familiar da doença (*Apud* Mishra, 2005).

Farber, em 1945, criou o termo mucoviscidose para designar a doença, por considerá-la um estado generalizado de secreções espessas. Um ano mais tarde, Andersen e Hodges demonstraram, pela primeira vez, a origem genética da mucoviscidose (*Apud* Davis, 2006).

Di Sant'Agnese e colaboradores realizaram a primeira observação da secreção aumentada de eletrólitos no suor em pacientes desidratados, durante um verão muito quente de 1948 (Di Sant'Agnese et al., 1953). Em 1955, foi fundada a instituição

americana CFF. Gibson e Cooke, em 1959, padronizaram o teste do suor criando técnicas para estimulação, coleta e medição da concentração de eletrólitos no suor, que se tornou o principal exame para diagnóstico da doença (Gibson e Cooke, 1959).

A *International Cystic Fibrosis Mucoviscidosis Association*, fundada em 1964, estabeleceu um plano terapêutico enfatizando a higiene brônquica, a nutrição e o tratamento da afecção. Esta instituição desempenha, até hoje, importante papel na divulgação de conhecimentos, assim como no financiamento de pesquisa, e estrutura redes de apoio aos doentes e suas famílias. Quatro anos mais tarde, em 1968, Shwachman e Holsclaw descreveram a obstrução do ducto deferente e dos tubos seminíferos, responsável pela infertilidade presente na maioria dos homens com FC. Onze anos depois, Crossey e colaboradores demonstraram o aumento da TIR no sangue dos indivíduos com FC, que, mais tarde, serviria de fundamento para o teste da triagem neonatal da FC (Crossey et al., 1979).

A fisiopatologia da FC foi melhor compreendida quando, em 1982, Quinton e colaboradores sugeriram uma anormalidade no transporte de eletrólitos nas glândulas sudoríparas, que explicava os níveis elevados de sal no suor desses pacientes (Quinton et al., 1982).

Em 1983, Knowles e colaboradores observaram que o potencial elétrico do epitélio respiratório de um paciente com FC estava muito aumentado quando comparado ao epitélio respiratório de indivíduo normal, também este achado serviu de fundamento para o exame da DPN (Knowles et al., 1983). Atualmente, este exame vem se constituindo como nova ferramenta diagnóstica para a forma não clássica de apresentação da FC (De Boeck et al., 2006).

Na mesma década, o gene da FC foi localizado no braço longo do cromossomo 7, posteriormente clonado e sequenciado, aprimorando o conhecimento sobre as bases moleculares da doença (Riordan et al., 1989 e Rommens et al., 1989).

### **1.3.2 - Definição**

A FC é a doença genética letal, multissistêmica, de herança autossômica recessiva, de evolução crônica e progressiva, mais frequente na população caucasóide. É causada por um defeito no transporte iônico nas células epiteliais, incluindo as das glândulas mucosas e serosas, levando ao aumento na viscosidade de seus fluidos e consequente obstrução dos ductos e canalículos (Ratjen e Doring, 2003).

### **1.3.3 - Epidemiologia**

Embora varie de acordo com as etnias, a FC é mais incidente na raça branca e acomete entre 1 em 2 500 nascidos vivos. Na raça negra, a incidência é de 1 em 17 000 nascidos vivos e, na raça amarela 1 em 25 000 nascidos vivos (Wilmott e Fiedler, 1994; Welsh et al., 1995).

Na Europa, a incidência média é de 1 em 3 200 nascidos vivos, chegando a alcançar, na Irlanda, uma incidência de 1 em 1 353 nascidos vivos. Nos EUA, a incidência é de 1 em 3 500 nascidos vivos. Na África, a incidência é de 1 em 7 056 nascidos vivos e, no Japão, 1 em 35 000 nascidos vivos (WHO, 2009).

Mais recentemente, um estudo genético, multicêntrico, brasileiro, analisou 2683 RN de cinco estados: São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e mostrou que a estimativa de incidência nas regiões sul e sudeste é de 1 RN doente em cada 7 576 nascidos vivos. No Estado do Rio Grande do Sul, foi observada a mais alta frequência, 1 em cada 1 587 nascidos vivos. Em Santa Catarina, a incidência foi de

1 em cada 12 195 nascidos vivos. No Paraná, 1 em cada 6 803 nascidos vivos. Em São Paulo, 1 em cada 32 258 nascidos vivos e em Minas Gerais 1 em cada 21 277 nascidos vivos (Raskin et al., 2008). No Rio de Janeiro, a estimativa de incidência é de 1 em 6 902 nascidos vivos (Cabello et al., 1999). Estudo piloto realizado no município de Ribeirão Preto (SP) mostrou estimativa de incidência de 1 em cada 8 403 nascidos vivos (Rodrigues, 2008).

Ao analisar os resultados da implantação da FASE III do PNTN, Santos e colaboradores, no Paraná, verificaram a incidência de 1 em 9 520 nascidos vivos (Santos et al., 2005). Em Santa Catarina, a incidência foi de 1 em cada 8 779 nascidos vivos (Honorio et al., 2006). E em Minas Gerais, encontraram 1 em cada 9 115 nascidos vivos (Reis et al., 2006).

Foi realizado um seguimento de 20 anos de pacientes com FC no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com objetivo de identificar o quadro clínico e nutricional à admissão desses pacientes no Centro de Tratamento de FC e avaliar a sobrevivência a longo prazo. Nesse período, 127 pacientes com FC foram acompanhados e submetidos a protocolo previamente estabelecido, após confirmação do diagnóstico pelo teste do suor. Foram obtidos, na admissão, dados demográficos, da apresentação clínica, nutricionais e laboratoriais. Em relação à variável sexo, houve predominância do sexo masculino, 60%(77) eram do sexo masculino e 39,4%(50), do sexo feminino. Em relação à variável cor, a predominância foi da cor branca, sendo 56%(71) das crianças consideradas de cor branca e 44%(56) de cor não branca. Os pacientes foram seguidos por mediana de 44 meses. A mediana da idade do diagnóstico da FC foi de 33 meses. A manifestação clínica predominante na época do diagnóstico foi a associação de sintomas respiratórios e gastrointestinais crônicos, presentes em 61% das crianças. A mutação mais frequente encontrada foi a  $\Delta F508$ . Houve uma



prevalência de desnutrição, na admissão, de 63%, tendo sido reduzida para 45% no final do seguimento. Vinte (15,7%) evoluíram para o óbito. A probabilidade estimada de sobrevivência nos primeiros 12 meses, após o diagnóstico, foi de 96% e, após 5 anos de seguimento, de 80% (Reis et al., 2000).

#### 1.3.4 - Genética

A FC é causada por mutações em um gene localizado no braço longo do cromossomo 7, no *locus* q 31, com 27 éxons (Kerem et al., 1989; Welsh et al., 2001). Este gene é responsável pela codificação de um ácido ribonucleico mensageiro de 6,5 quilobases que transcreve uma proteína reguladora da condutância transmembrana da FC de 1480 aminoácidos, a CFTR (Tsui et al., 1991).

Cada indivíduo pode herdar um gene CFTR do pai e um gene CFTR da mãe, e ambos os genes são chamados alelos CFTR. Quando uma mutação é encontrada em somente um alelo, o indivíduo é considerado portador do gene da FC. Na doença autossômica recessiva, os pais, quando não doentes e/ou sem sintomas, são, pelo menos, portadores do gene. Nesta situação, a probabilidade, em cada gravidez, de nascer um filho com FC é de 25%. A chance de ser portador é de 50% e de ser saudável é de 25%. A proteína CFTR localiza-se na membrana apical das células epiteliais e tem a função de regular e participar do transporte de eletrólitos através das membranas celulares, estando envolvida na regulação do fluxo de  $\text{Cl}^-$ , sódio ( $\text{Na}^+$ ) e água.

Desde a descoberta do gene em 1989, mais de 1500 mutações causadoras de FC já foram descritas (Yankaskas et al., 2004; Zielenski et al., 1989). O espectro das mutações na FC faz com que a CFTR não atinja a membrana apical ou a atinja com atividade defeituosa. Isso resulta em prejuízo no transporte do  $\text{Cl}^-$  na superfície apical das células epiteliais.

As mutações podem afetar a CFTR na maturação precoce, no seu transporte para a membrana celular, na redução da síntese ou do funcionamento da CFTR.

Essas mutações alteram a função da proteína CFTR através de vários mecanismos que são agrupados em 5 classes:

- Classe1 → produção defeituosa da proteína; inclui sinais de término prematuro e anormalidades de junção, resultando na supressão de síntese da CFTR;
- Classe2 → processamento defeituoso da proteína com uma importante alteração na biossíntese proteica;
- Classe3 → regulação defeituosa do canal de  $\text{Cl}^-$ ; a proteína sintetizada alcança a membrana celular, porém os canais de  $\text{Cl}^-$  apresentam um defeito de regulação;
- Classe4 → transporte defeituoso da proteína com uma redução na permeabilidade do canal de  $\text{Cl}^-$ ;
- Classe5 → quantidade reduzida da proteína funcional CFTR, ou seja, a produção ou o processamento da CFTR é parcialmente defeituoso.

Dessa forma, o fenótipo dos pacientes varia de acordo com o percentual de disfunção produzida pela CFTR que resultou na classificação anterior.

As mutações das classes 1 a 3, habitualmente, estão associadas à insuficiência pancreática, enquanto que as mutações das classes 4 e 5 são diagnosticadas em menor frequência e apresentam a função pancreática preservada, pois o gene CFTR é suficientemente funcional nessas classes (Castellani et al., 2008).

A mutação  $\Delta F508$  pertencente à classe 2 consiste na deleção de três pares de bases nitrogenadas, responsáveis pela codificação do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína (Welsh et al., 2001; Castellani et al., 2008).

Nos Estados Unidos 90% de pacientes com FC apresentam a mutação  $\Delta F508$ . Quando analisada, a frequência dessa mutação nos cromossomas tem sido identificada

em aproximadamente 70% dos cromossomas nos EUA e no norte da Europa (Rowe et al., 2005).

No Brasil, Raskin e colaboradores, em 2008, identificaram a presença da mutação  $\Delta F508$  em 48% dos alelos examinados ao estimarem sua prevalência em cinco estados brasileiros (Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo), com uma frequência maior em São Paulo (52%) e Rio Grande do Sul (49%), e uma prevalência de 2,3% de carreadores ou portadores do gene. Os resultados desse estudo sugeriram que as medidas de prevalência da FC diferem em quase 20 vezes (1 em cada 32 258 nascidos vivos em São Paulo até 1 em cada 1 587 nascidos vivos no Rio Grande do Sul) entre as regiões do Brasil, enquanto que as diferenças entre os carreadores da mutação foram mais modestas, de aproximadamente 1 em 90 em São Paulo a 1 em 20 no Rio Grande do Sul (Raskin et al., 2008).

Para Knowles e colaboradores, pacientes com essa mutação têm uma reabsorção clorídrica dos canais de suor alterada, que resulta em uma concentração de íons  $Cl^-$  no suor maior que 60 mmol/L (Knowles et al., 1986). Além disso, alguns autores, como Davies e colaboradores, sugerem a presença de genes modificadores, que seriam responsáveis pelo contraste da relação genótipo/fenótipo nos indivíduos com FC (Davies et al., 2005).

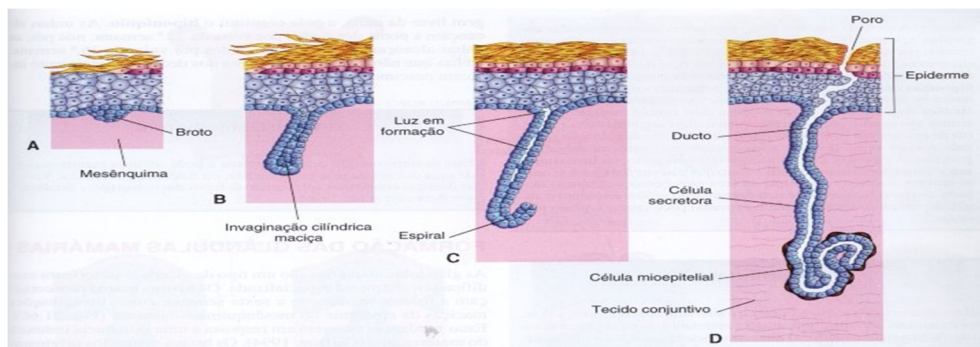
As mutações G542X, G551D, N1303K e W1282 também são encontradas com bastante frequência (acima de 1%), dependendo da raça, etnia e regiões de origem da população estudada (Kerem e Kerem, 1996).

### 1.3.5 - Glândula Sudorípara

A base para a compreensão do fundamento dos testes diagnósticos que verificam a disfunção da proteína CFTR está na fisiologia da glândula sudorípara. Para entender a fisiologia da glândula sudorípara, é necessário rever sua embriologia.

#### 1.3.5.1 - Embriologia

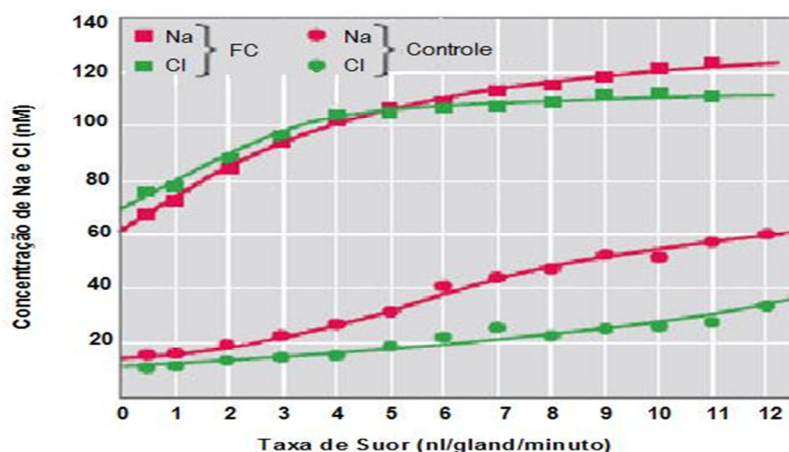
A glândula sudorípara é formada como projeção maciça de células epidérmicas no mesênquima subjacente (futura derme) por volta da 20ª semana de gestação (Figura 1.1-A). Enquanto o broto epidérmico se alonga (Figura 1.1-B), sua extremidade se enrola (Figura 1.1-C), formando o primórdio da porção secretora da glândula. A fixação epitelial da glândula em formação à epiderme forma o primórdio do ducto. As células centrais desses primórdios degeneram, formando a luz da glândula e as células periféricas da porção secretora da glândula diferenciam-se em células secretoras e mioepiteliais (Figura 1.1-D). As células mioepiteliais, derivadas do ectoderma, são tidas como células de músculo liso especializadas, que ajudam a expelir o suor das glândulas (Moore e Persaud, 1994).



**Figura 1.1:** Diagramas ilustrando etapas sucessivas no desenvolvimento de uma glândula sudorípara. Retirada e adaptada de Moore e Persaud, 1994.

### 1.3.5.2 - Fisiologia

O primeiro indício de que a FC apresentava alteração na glândula sudorípara, além do muco alterado, foi observado por Di Sant’Agnese e Andersen, ao demonstrar que a glândula sudorípara era a fonte da perda do volume de sal no suor dos pacientes (Di Sant’Agnese et al., 1953). Quando o suor foi coletado e analisado, tanto a concentração de  $\text{Cl}^-$  como a de  $\text{Na}^+$  estavam aumentadas nos pacientes com FC. Depois de analisar centenas de pacientes, começou a ficar evidente que duas zonas relativamente distintas separavam os pacientes controle dos pacientes com FC (Figura 1.2) (Bijman e Quinton, 1984; Quinton, 2007).



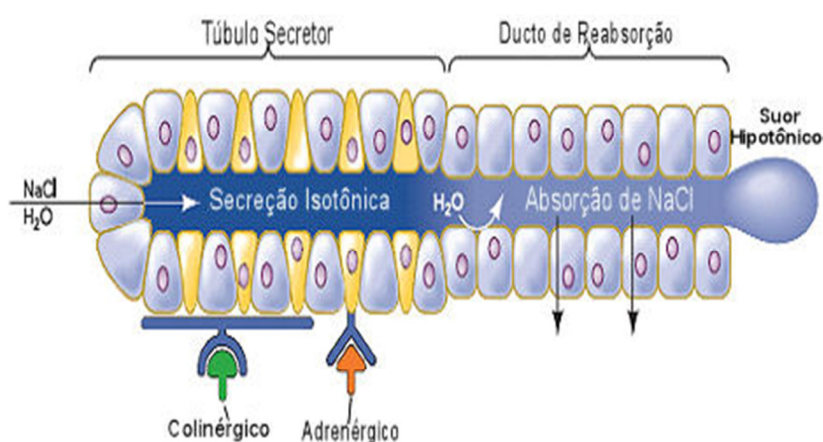
**Figura 1.2:** Concentração de sódio e cloro no suor de pacientes FC e não-FC. Retirada e adaptada de Bijman e Quinton, 1984.

Em estudo extensivo, a média dos valores dos eletrólitos no suor de irmãos e pais de pacientes FC apresentaram valores acima da população normal (Di Sant’Agnese e Powell, 1962).

Em algumas ocasiões, ao tentar obter suficiente quantidade de suor para análise, os pacientes eram colocados em sacos corporais, e essa abordagem se revelou de alto risco para a hipertermia, que evoluía para óbito (Quinton, 2007).

Contemporânea às observações de Di Sant’Agnese, a teoria dos “dois passos” da formação do fluido da glândula exócrina foi publicada e predizia que o fluido exócrino

era primeiro secretado como um fluido isosmótico na estrutura acinar ou secretora da glândula, e, secundariamente, a composição do fluido era modificada quando passava através da rede de túbulos e ductos antes de ser excretado (Figura 1.3). A atividade secretora das glândulas sudoríparas é quase completamente insensível à estimulação  $\beta$ -adrenérgica no FC, devido ao mau funcionamento da CFTR. A termorregulação da sudorese parece ser puramente colinérgica na FC (Quinton, 2007).



**Figura 1.3:** Diagrama de dois componentes e de duas etapas presentes no modelo de Schwartz-Thaysen de secreção da glândula exócrina que explica a composição final do fluido excretado da glândula. Retirada e adaptada de Quinton (2007).

A amostra ultramicroscópica da glândula, a osmometria crio-histológica e a extrapolação linear foram importantes abordagens que verificaram a teoria dos “dois passos”. A alta concentração dos eletrólitos no suor dos FC seria determinada pela alteração da secreção primária (isosmótica) ao longo da glândula e pela reabsorção alterada de cloreto de sódio (NaCl) nos túbulos de reabsorção dos FC (Quinton, 2007).

Slegers também observou que a razão da concentração de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no suor de indivíduos normais foi maior que 1, ao passo que, nos FC, essa proporção foi quase sempre menor que 1 (Slegers, 1966).

A disfunção na CFTR explica as alterações nos diversos órgãos envolvidos na FC. A CFTR se expressa nas células epiteliais do trato respiratório, no pâncreas, no intestino, nas glândulas sudoríparas e salivares e no sistema reprodutor.

Nas glândulas sudoríparas de indivíduos hígidos, o  $\text{Na}^+$  da perspiração é paulatinamente reabsorvido nos ductos luminiais, junto com o  $\text{Cl}^-$ , resultando na produção de suor com pouco sal. Já os pacientes com FC apresentam células epiteliais impermeáveis ao  $\text{Cl}^-$ , e, conseqüentemente, o  $\text{Na}^+$  não é reabsorvido, levando à eliminação de suor com alto teor de sal - “suor salgado”. A diferença básica do paciente com FC para o não-FC está na habilidade em reabsorver o  $\text{Cl}^-$  antes da eliminação do suor na superfície da pele. Sabe-se que a reabsorção do  $\text{Cl}^-$  é feita através da CFTR, que se encontra nas membranas plasmáticas da superfície apical das células situadas ao longo do ducto da glândula sudorípara. Como não há outro caminho para efetiva reabsorção do  $\text{Cl}^-$ , o  $\text{Na}^+$  é também insuficientemente reabsorvido (Davis, 2006).

### **1.3.6 - Testes Diagnósticos**

A variabilidade das mutações genéticas encontradas na FC determina uma grande variedade de manifestações clínicas (Sokol e Durie, 1999). A doença tem caráter multissistêmico, entretanto são as manifestações pulmonares que dominam o quadro clínico e, mais frequentemente, são responsáveis pela evolução da doença (Lyczac et al., 2002).

Na maior parte das vezes, o diagnóstico de FC é feito com base nas características fenotípicas associadas à presença de concentrações do cloreto no suor superior a 60 mmol/L (De Boeck et al., 2006; Farrell et al., 2008).

Dessa forma, o diagnóstico da FC pode ser obtido através dos seguintes testes: teste genético, medida da DPN e teste do suor.

### **1.3.6.1 - Teste Genético**

O teste genético confirma o diagnóstico quando são encontrados dois alelos com algumas das mutações já descritas relacionados a FC no gene da CFTR. Como descrito anteriormente, no item 1.3.4, o mecanismo genético que produz a disfunção da CFTR constitui o fundamento para a compreensão da fisiopatologia da FC. A era do genoma da FC, que se iniciou com o clone do gene da CFTR e que continua com a expansão do conhecimento das várias funções da CFTR, confirmou diversas hipóteses diagnósticas de FC. Porém, existem pacientes com manifestações fenotípicas de FC que não possuem mutações para FC identificadas (Mishra et al., 2005).

Em futuro próximo, ao realizar a correção do gene e/ou a recuperação das disfunções das correspondentes classes de mutações, será possível instituir um tratamento individualizado a cada paciente com FC.

Destaca-se o alto custo para realizar a análise das mutações relacionadas à FC, tendo em vista que o número de painéis de investigação genética disponível é muito pequeno, se comparado ao número de mutações existentes em populações com alto grau de miscigenação, dificultando mais ainda o diagnóstico em países como o Brasil. Outra limitação do teste genético é que várias mutações no gene CFTR estão associadas a concentrações de  $\text{Cl}^-$  no suor normal ou intermediário: 3849 + 10kb C>T, R117H, G551S, A455E, D1152H, IVS8 (5T), L206W, 2789 + 5G >A (Farrel e Koscik, 1996).

### **1.3.6.2 - Medida da Diferença de Potencial Nasal**

A disfunção da CFTR pode ser demonstrada por aumento da concentração de eletrólitos no suor e pela evidência de anormalidade no transporte iônico por quantificação direta da DPN. Devido ao defeito da proteína CFTR e ao consequente



aumento na reabsorção de  $\text{Na}^+$  celular, haverá uma diferença de potencial elétrico alterada na membrana celular.

Em 1964, Schulz e colaboradores notaram em 3 pacientes com FC que o potencial elétrico associado à produção de suor na pele era mais eletronegativo que o normal e sugeriram que isso só poderia ocorrer se o  $\text{Cl}^-$  fosse menos permeável que o  $\text{Na}^+$ , mas esses resultados só foram aceitos quando revisados 14 anos mais tarde (Schulz et al., 1964).

Em 1983, Knowles e colaboradores demonstraram que o potencial eletronegativo através da via aérea nasal nos FC é significativamente maior que o normal. Associa-se ao fato que a absorção de  $\text{NaCl}$  foi inibida nos ductos das glândulas sudoríparas, e o  $\text{Na}^+$  foi relativamente mais absorvido que o  $\text{Cl}^-$ , o que leva a pensar que o defeito básico no ducto dos FC é devido a impermeabilidade dos ânions e não devido a troca defeituosa dos ânions ou aumento do  $\text{Na}^+$  absorvido. No entanto, o volume dos fluidos envolvidos na microperfusão de um só ducto é muito pequeno e a atividade específica do  $\text{Cl}^-$  é muito baixa para medir com acurácia o fluxo dos isótopos para provar a impermeabilidade ao  $\text{Cl}^-$ . Nos segmentos isolados e microperfundidos dos ductos de absorção dos pacientes com FC e dos pacientes normais, foi visto que a média do potencial transepitelial espontâneo dos ductos da glândula sudorípara de não-FC era de, aproximadamente, 7mV, ao passo que, nos ductos dos pacientes com FC, era de, aproximadamente, 75mV (Knowles et al., 1983).

A medida da DPN é o exame no qual se verifica a alteração da diferença de potencial na via aérea nasal, atribuída à disfunção da proteína CFTR. Durante o exame, uma diferença no potencial elétrico é aferida pela colocação de eletrodos no epitélio da mucosa nasal e no antebraço do paciente. O epitélio nasal é exposto a soluções e, diante de sua resposta a cada uma delas, obtêm-se as medidas sequenciais da diferença de

potencial, relacionadas à absorção e à reabsorção de eletrólitos (Wilfond e Taussig, 1999).

### **1.3.6.3 - Testes do Suor**

O termo teste do suor refere-se à análise da concentração eletrolítica e também da condutividade e da osmolaridade nas amostras do suor (LeGrys, 1996).

A anormalidade do transporte de íons, observada na FC, é demonstrada por elevadas concentrações dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no suor pelo teste do suor (TS) (Beauchamp e Lands, 2005).

O TSCo, que será abordado adiante, é um teste recomendado pela CFF para triagem da FC. O algoritmo nos programas de triagem que utilizam o TSCo recomenda que, diante de um resultado positivo ou intermediário, o paciente seja encaminhado para a realização da quantificação da concentração dos eletrólitos,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ , pela realização do TSCL em amostra de suor obtida para a confirmação de um diagnóstico de FC (LeGrys, 1996; De Boeck et al., 2006).

#### **1.3.6.3.1 - Teste do suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos (TSCL)**

Depois de 50 anos, a dosagem quantitativa de eletrólitos no suor, que é obtido método da iontoforese por pilocarpina, descrito originalmente por Gibson e Cooke (Gibson e Cooke, 1959), continua sendo o teste específico mais confiável para o diagnóstico de FC (Mishra et al., 2005; De Boeck et al., 2006; Farrell et al., 2008).

Pelo consenso diagnóstico europeu (De Boeck et al., 2006) e americano (Farrell et al., 2008), as indicações para o TS são: fenótipo sugestivo de FC; história familiar de FC; teste de triagem positivo do RN. Diante dessas situações, se o TS for considerado positivo, define-se o diagnóstico de FC.

Segundo as normas estabelecidas num consenso de Patologia Clínica no Reino Unido - *Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Investigation of Cystic Fibrosis in the UK* (Sweat Test Guidelines, 2003), o TS, idealmente, deve ser realizado após duas semanas de vida em RN com peso maior que três quilos, crianças hidratadas e sem sinais clínicos de doença aguda. Caso seja de extrema necessidade, pode ser feita tentativa em crianças com mais de sete dias de vida. O TS deve ser adiado nos pacientes desidratados, edemaciados, em uso de corticosteróides sistêmicos, com doença aguda, em uso contínuo de oxigênio por sistema de distribuição aberta ou nos pacientes que apresentem eczema nos locais de estimulação.

A superfície flexora do antebraço é o local preferencial para a realização do TS. Outros locais também podem ser utilizados, porém menos comumente: parte superior do braço, coxa e dorso.

Para evitar alterações na composição do suor, deve-se tomar cuidado em todas as três etapas subsequentes do procedimento: estimulação, coleta e análise.

### **Estimulação:**

A primeira etapa do TS é a estimulação do suor por iontoforese, realizada através de um aparelho indutor de suor. Este, ao gerar uma corrente elétrica, cuja energia é proveniente de uma bateria, induz à produção do suor pelas glândulas sudoríparas. O antebraço deve ser limpo com gaze umedecida em água deionizada, iniciando-se a limpeza na área central onde o suor será coletado. Em seguida, o antebraço deve ser secado com outra gaze isenta de água ou soluções.

Os eletrodos de tamanho adequado, que podem ser de cobre ou aço inoxidável, devem ser fixados de modo confortável no antebraço por meio de faixas ajustáveis, de elástico ou velcro. Regularmente, os eletrodos requerem inspeção e limpeza.

O eletrodo vermelho (polo positivo) e o eletrodo preto (polo negativo) são, então, conectados nas respectivas placas. Coloca-se, em seguida, uma gaze umedecida ou papel de filtro embebido em solução de pilocarpina a 0,5% no antebraço do paciente e sobre ela as placas dos eletrodos. As gazes que contêm a solução de pilocarpina devem ser, no mínimo, 1 cm maiores que as placas dos eletrodos, evitando-se o contato direto entre o metal do eletrodo e a pele, para prevenir queimaduras e não reduzir a iontoforese.

Quando devidamente posicionados, os eletrodos são conectados à fonte indutora de corrente. O aparelho indutor é ligado, inicialmente, com uma corrente de 0,5 mA. Gradativamente, a corrente deve ser aumentada até, no máximo, 4mA, mantendo-se constante durante 3 a 5 minutos. Depois, essa corrente deve ser reduzida gradualmente, até o aparelho ser desligado. Durante esta etapa, alguns pacientes podem ter uma leve sensação de formigamento ou um incômodo local.

Terminada a etapa de estimulação, os eletrodos são desconectados das placas. Em seguida, as placas e as gazes com pilocarpina são retiradas. O antebraço será limpo, novamente, com água deionizada e secado com gaze isenta de água ou soluções.

#### **Coleta:**

O tempo de coleta do suor deve ser de 30 minutos. Uma mesma balança, com sensibilidade de até 0,0001g, deve ser usada em todo o procedimento, para se pesar a amostra do suor.

A gaze ou papel de filtro, previamente pesados em balança analítica, devem ser retirados, com uma pinça, de dentro de um recipiente plástico identificado e colocado sobre a área do antebraço que recebeu a estimulação, sendo vedada com plástico transparente, fixado com esparadrapo ou fita-adesiva. A parte interna do plástico e a

gaze, ou papel de filtro, nunca devem entrar em contato direto com as mãos do operador.

A gaze ou papel de filtro embebidos de suor devem ser colocados, com uma pinça, no mesmo recipiente já identificado, o qual deve estar bem vedado para evitar a evaporação e, conseqüentemente, alterar a concentração dos eletrólitos no suor.

O recipiente com a gaze ou papel de filtro embebida(o) de suor será novamente pesado em balança analítica. A diferença entre os valores obtidos na pesagem, antes e depois, fornece o peso da amostra de suor.

Cinco mililitros de água bidestilada devem ser pipetados para dentro do frasco com gaze ou papel de filtro embebida(o) de suor, com a finalidade de diluição do mesmo. O frasco deve ser tampado e, caso seja necessário o armazenamento da amostra antes da análise, o suor será mantido a 4°C por, no máximo, três dias em recipientes hermeticamente fechados, para evitar escoamento do material e evaporação.

Considera-se inadequada a amostra de suor quando a sua taxa é menor que 1g/m<sup>2</sup> de superfície corpórea/ minuto (equivalente ao volume de 50mg de suor). A quantidade de suor aquém desse valor deve ser desprezada (De Boeck et al., 2006).

Os procedimentos dessas fases de estimulação e coleta necessitam ser realizados em laboratórios por técnicos bem treinados, experientes e habilitados. O tempo prolongado na realização aumenta o risco de erros. Dificuldades têm sido descritas na realização do teste em RN, tendo-se em vista que, pelo menos, 50 mg de suor devem ser coletados para se obter um resultado confiável (Sweat Test Guidelines, 2003).

#### **Análise:**

A técnica titulométrica, que se caracteriza por ser uma análise semiquantitativa, faz-se a partir da eluição do suor do papel de filtro, que tem duração de, no mínimo, 40

minutos. Um mililitro da solução diluída de suor é pipetado e transferido para o tubo de ensaio. Três gotas de difenilcarbazona são acrescentadas ao tubo de ensaio e, em seguida, uma gota de ácido nítrico, como marcadores de reação. A mistura ficará homogênea, agitando-se bem o tubo de ensaio. Dois mililitros da solução de nitrito de mercúrio serão aspirados com pipeta e gotejados lentamente. Depois de colocada cada gota no tubo com suor diluído, o mesmo será agitado até se perceber a mudança da coloração da solução, de incolor para lilás claro. O volume de nitrito de mercúrio gasto é anotado. E, em seguida, uma fórmula para o cálculo da concentração de  $\text{Cl}^-$  em mEq/l é empregada:  $\text{Cl}^- \text{ mEq/l} = (5 + \text{peso do suor em g} * 5 * \text{volume nitrito de mercúrio em ml}) / \text{peso do suor}$ .

Os outros métodos satisfatórios e aceitos para dosagem de  $\text{Cl}^-$  no suor são: coulométrico e eletrodo de íon específico. O método coulométrico utiliza um cloridrômetro digital, que serve para determinar a concentração de íons  $\text{Cl}^-$  em amostras clínicas, como urina, soros e extratos biológicos. Consiste de um titulador coulométrico microprocessado, apropriado para detectar  $\text{Cl}^-$  no suor. Permite utilizar microamostras de 0,1 ml, ou menos, de soro, suor e extratos de tecidos, sem necessidade de processamento anterior, ou precipitação da proteína antes da diluição. O tempo total de titulação é de menos de 20 segundos, para concentrações de 100mEq/l.

Os métodos de análise do  $\text{Na}^+$  satisfatórios e aceitos são: fotometria de chama e eletrodo de íon específico.

### **Interpretação dos resultados da dosagem quantitativa de eletrólitos no suor**

Nos pacientes com FC, usualmente, a concentração de  $\text{Na}^+$  no suor é menor que a de  $\text{Cl}^-$ . Em indivíduos saudáveis, geralmente ocorre o inverso. O  $\text{Na}^+$  não deve ser interpretado sem um resultado de  $\text{Cl}^-$ , e a análise do  $\text{Cl}^-$  tem maior acurácia que a

análise de  $\text{Na}^+$ . Com isso, muitos laboratórios usam níveis de  $\text{Na}^+$  somente como um parâmetro para monitoramento do controle de qualidade do laboratório, já que uma discordância significativa entre a concentração dos dois eletrólitos indica que está ocorrendo um erro em alguma etapa do teste. Caso as concentrações de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$  sejam muito discrepantes, o teste deve ser repetido.

A diferença entre as concentrações de  $\text{Cl}^-$  e de  $\text{Na}^+$  deve ser de até 15 mmol/L (NCCLS,2000), mas ambos estão proporcionalmente elevados nos pacientes com FC. Resultados não fisiológicos devem ser questionados, como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  maior que 150mmol/L (LeGrys et al., 2007).

A concentração de  $\text{Cl}^-$  no suor maior ou igual a 60mmol/L suporta o diagnóstico de FC. Nos pacientes com menos de 6 meses de idade, a concentração intermediária de  $\text{Cl}^-$  entre 30 – 59 mmol/L sugere FC, e nesse caso, o paciente necessita de mais investigação. A concentração de  $\text{Cl}^-$  menor que 30 mmol/L nesses pacientes sugere uma baixa probabilidade de FC. Já nos pacientes maiores de 6 meses, a concentração intermediária de  $\text{Cl}^-$  entre 40 – 59 mmol/L é sugestiva, mas não diagnóstica de FC, nessa situação, o paciente é considerado suspeito, e o teste deve ser repetido. A concentração de  $\text{Cl}^-$  menor que 40 mmol/L nesses pacientes sugere uma baixa probabilidade de FC (Farrell et al., 2008).

Em alguns laboratórios, a coleta do suor é realizada em dois locais diferentes, por exemplo, no membro superior esquerdo e no membro superior direito do mesmo paciente, ao mesmo tempo, tentando assegurar a qualidade do exame. Isso não deve ser interpretado como dois exames para os critérios diagnósticos. A maioria das concentrações de  $\text{Cl}^-$  em teste duplo apresenta uma diferença entre 1 e 5mmol/L.

Os resultados do teste de suor devem ser interpretados relacionando-os com a clínica do paciente. O diagnóstico deve ser feito somente se houver uma elevada

concentração de  $\text{Cl}^-$  nos TS realizados em duas ocasiões separadas, em um paciente com uma ou mais características fenotípicas, história familiar, ou um teste de triagem no RN positivo para FC (Rosenstein e Cutting, 1998).

Falsos resultados provêm de erros técnicos e erros na interpretação do TSCI, como taxa de coleta de suor insuficiente, evaporação e contaminação da amostra de suor, bem como erros na diluição na etapa de análise do  $\text{Cl}^-$ , na calibração de instrumentos e na interpretação do resultado. Os erros são mais frequentes em laboratórios que realizam poucos testes. Falta de conhecimento do método laboratorial, falha em repetir resultados positivos e limítrofes, e falha em repetir testes de pacientes com apresentações atípicas de FC podem levar a falsos resultados.

Já foi referido que a amostra de suor deve ter peso superior a 50mg, e a coleta não deve ultrapassar um período de 30 minutos. Durante a estimulação com pilocarpina, taxas do suor aumentam rapidamente após os primeiros 10 minutos e, então, diminuem até o basal por volta dos 60 minutos (Webster, 2001, a). Ultrapassando os 30 minutos, a concentração eletrolítica diminui. Logo, prolongar a coleta por mais de 30 minutos resulta em um suor relativamente diluído, levando a diminuição do resultado do valor do  $\text{Cl}^-$  no suor. O TSCI requer tempo, balança de precisão, cuidados para prevenir a evaporação da amostra e habilidade para calcular a composição eletrolítica de amostras diluídas, necessitando ser realizado por equipe profissional experiente. (De Boeckel al., 2006; Farrell et al., 2008).

Existem várias causas potenciais para alterar o resultado de  $\text{Cl}^-$  no suor, tanto para falso-negativo, quanto para falso-positivo (LeGrys e Wood, 1988). As causas de resultados falsamente negativos provêm de problemas técnicos (falha em secar a pele antes da coleta do suor; erros em pesagem, diluição, eluição, ou computação dos resultados) e problemas fisiológicos (análise de volume de suor insuficiente; edema; uso



de mineralocorticoides). As causas de resultados falso-positivos podem ser reversíveis (insuficiência adrenal, anorexia nervosa, dermatite atópica, pele com eczema ou exantema, doença celíaca, hipoparatiroidismo familiar, hipotireoidismo não tratado, desnutrição, desidratação, diabetes insípido nefrogênico, nefrose, infusão de prostaglandina e1, pseudohipoadosteronismo, falência do crescimento psicológico) e não-reversíveis (disfunção autonômica, displasia ectodérmica, colestase familiar, fucosidose, deficiências de desidrogenase e de glicose-6-fosfato, doença depósito glicogênio tipo 1, hipogamaglobulinemia, síndrome de Klinefelter, síndrome de Mauriac, mucopolissacaridose tipo 1) (LeGrys, 1996; Beauchamp e Lands, 2005).

Frente à complexidade do diagnóstico e ao conhecimento de que nem todos os pacientes com FC apresentam quantidades elevadas de  $Cl^-$  no suor, já foram anteriormente referidas outras técnicas diagnósticas como a determinação do genótipo com a identificação de duas mutações para FC e a medida da DPN com a demonstração de alteração no transporte iônico no epitélio nasal (De Boeck et al., 2006).

#### **1.3.6.3.2 - Teste do suor pela condutividade (TSCo)**

Ao longo do tempo, métodos alternativos de coleta, e também métodos alternativos de análise do suor têm sido introduzidos, visando a simplificar a coleta e a análise das amostras de suor, reduzindo a probabilidade de erros. Nesse contexto, destaca-se o TSpela condutividade ou TSCo, que vem sendo utilizado por ser mais simples, mais prático, e por necessitar de amostras menores de suor para análise, muito útil principalmente em crianças menores.

Semelhante ao TSCI, o TSCo é constituído de três etapas: estimulação, coleta e análise do suor.

**Estimulação:**

Primeiramente, a face anterior do antebraço deve ser limpa com água deionizada. Em seguida, os discos de pilogel (2,8cm de diâmetro cada), com nitrato de pilocarpina a 0,5%, são acoplados aos eletrodos, os quais receberão estimulação elétrica. O eletrodo vermelho (polo positivo) é colocado mais proximal e o eletrodo preto (polo negativo) mais distal à dobra do cotovelo. Os eletrodos são fixados no antebraço através de faixas ajustáveis de velcro.

A estimulação da sudorese será induzida por fonte de corrente gerada por bateria, que, durante um período de 5 minutos, aumenta, mantém-se constante e, então, diminui a corrente elétrica. A intensidade máxima de corrente durante o procedimento é 1,5 mA.

Terminada a fase de estimulação por iontoforese por pilocarpina, retiram-se os eletrodos, e a face anterior do antebraço que recebeu estimulação é limpa com água deionizada e secada com gaze.

**Coleta:**

O sistema de coleta do suor é através de um tubo coletor disposto em espiral localizado dentro de um disco plástico (Macroduct®), que possui um orifício que fica em contato com a pele, por onde o suor irá entrar. O disco plástico é fixado na pele, no local que recebeu estimulação elétrica, por uma faixa de velcro. À medida que o suor é coletado pelo tubo coletor, o suor vai adquirindo coloração azul. Dessa forma, ao ser visualizada a quantidade de suor azulado presente no disco plástico, o volume do suor em microlitros pode ser estimado ao ser comparado com o desenho-modelo do Macroduct® que possui marcações de medidas pré-determinadas em microlitros. O tempo de coleta do suor também é de 30 minutos. Essa é uma técnica simples e evita a

evaporação do suor, permitindo sua obtenção de maneira integral. O suor coletado no sistema Macroduct® pode ser armazenado num tubo selado por até 72 horas a 4°C.

#### **Análise:**

A condutividade elétrica, que também é referida como condutância específica de uma solução eletrolítica, é obtida pela multiplicação da condutância observada pela célula permanente. Nesse método, a concentração de mais de um eletrólito é medida ao mesmo tempo. Trata-se da análise de uma solução eletrolítica de múltiplos componentes. São aferidos componentes orgânicos e inorgânicos do suor: Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, potássio, cálcio, enxofre, ferro, magnésio, cobre, fosfato, iodo, flúor, ácido láctico, bicarbonato, uréia e aminoácidos (Litch et al., 1957). A leitura da condutividade é expressa em mmol/L, onde a unidade representa, em condutância, a concentração molar de uma solução equivalente de NaCl da amostra analisada, na mesma temperatura. Apesar de serem os eletrólitos com maior concentração no suor, é importante enfatizar que o valor da condutividade não representa somente a concentração do Na<sup>+</sup> e do Cl<sup>-</sup> na amostra de suor (Macroduct sweat testing system, 2011; Lezana et al., 2003). O aumento do íon Cl<sup>-</sup> no suor devido à disfunção da CFTR deve ser compensado pelo aumento dos cátions (por exemplo: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>), satisfazendo a Lei da Equivalência Elétrica. Logo, o aumento do Cl<sup>-</sup> leva a um aumento proporcional da concentração eletrolítica total, que é a base da análise pela condutividade elétrica (Webster, 2001,b).

Ao ser colocada a amostra de suor no analisador da condutividade, proceder-se-á à leitura imediata da osmolaridade de uma concentração de íons. A condutividade, reflexo de todos os ânions no suor, é, aproximadamente, 15 mmol/L mais alta do que a dosagem quantitativa do Cl<sup>-</sup> (LeGrys et al., 2000). Esse sistema também permite

quantificar a concentração de eletrólitos em amostras de menor volume (maior ou igual a 15 microlitros), tendo importante benefício para crianças menores (Macroduct, 2011).

### **Interpretação dos resultados da condutividade do suor**

Todo paciente com valor da condutividade do suor maior ou igual a 60 mmol/L deve ser encaminhado para a realização de um TSCI. Valor da condutividade abaixo de 60 mmol/L é pouco sugestivo de FC e valor da condutividade acima de 80 mmol/L é sugestivo de FC. No entanto, quanto aos valores de referência para condutividade como teste diagnóstico, não há consenso (Sweat-Chek, 2011).

Enquanto o TSCI, avalia a disfunção da CFTR predominantemente no canal de  $\text{Cl}^-$ , o TSCo amplia a avaliação da disfunção para outros canais de íons. Logo, o valor da condutividade vai além da dosagem do  $\text{Cl}^-$ , o que retrata as interrelações entre canais iônicos na disfunção da CFTR.

Como sistema de coleta, o Macroduct®, Wescor é aceito internacionalmente (Mastellaet al., 2000; Rosestein e Cutting, 1998). No entanto, a CFF aceita a condutividade realizada por meio de um analisador de suor Sweat-Chek®, Wescor somente como um teste de triagem, não sendo aceito como um teste diagnóstico, embora estudos mostrem que a condutividade apresenta boa correlação com a dosagem quantitativa dos eletrólitos no suor (Legrys, 2000).

#### **1.3.6.3.3 - Desempenho do teste do suor pela condutividade na Fibrose Cística**

Juerg Barben e colaboradores usaram a medida da condutividade do suor através de um novo sistema de coleta do suor, chamado Nanoduct®, para tentar identificar pacientes com FC. O Nanoduct® é um sistema que requer apenas três microlitros de suor, e o resultado fica disponível em 30 minutos. O estudo comparou o Nanoduct®

com o sistema de coleta do suor Macroduct®, medindo a concentração de  $\text{Cl}^-$  e a osmolaridade. Foram estudados 111 pacientes. Três crianças não produziram suor, e em 14 crianças, a condutividade não pôde ser medida. Dos 94 pacientes restantes, o novo sistema identificou todos os pacientes com FC clássica (média da condutividade 115mmol/L) e diferenciou-os dos pacientes saudáveis (média 36mmol/L). A medida da condutividade do suor, usando o novo sistema Nanoduct®, diferenciou pacientes com FC daqueles sem a doença (Quadro 1.1). Os autores concluem que o TSCo, não é tão sujeito à influência do operador quanto o TSCL, sobretudo nas fases de coleta e análise, e pode ser realizado em um tempo menor, uma vez que a mensuração da condutividade é automatizada (Barben et al., 2005).

Hammond e colaboradores compararam a análise da condutividade pelo Sweat-Chek® com a dosagem quantitativa de eletrólitos nas mesmas amostras de suor obtidas pelo sistema de coleta Macroduct® em 471 pacientes não-FC e 43 com FC. Todo paciente com FC teve condutividade maior que 90 mmol/L, enquanto que os não-FC tiveram condutividade menor que 87mmol/L. Os autores concluíram que a medida da condutividade dá resultados igualmente satisfatórios àqueles obtidos pela dosagem quantitativa de eletrólitos. Dessa forma consideraram que oTSCo seria tão efetivo quanto o TSCL, em diagnosticar os pacientes com FC (Quadro 1.1) (Hammond et al., 1994).

Heeley e colaboradores compararam a dosagem quantitativa de eletrólitos com a condutividade na mesma amostra coletada pelo sistema Macroduct®. Concluíram que a condutividade é tão efetiva quanto a medida do  $\text{Cl}^-$  para diagnóstico de FC (Quadro 1.1) (Heeley et al., 2000).

Mastella e colaboradores também constataram a efetividade da medida da condutividade. Esse estudo apresentou sensibilidade e especificidade da condutividade

comparável à análise química dos eletrólitos. Nenhum paciente detectado pelo TSCI foi considerado negativo pela condutividade (Quadro 1.1) (Mastella et al., 2000).

No México, foi realizado o maior estudo com o teste do suor pelo método da condutividade. Lezana e colaboradores estudaram 3.834 pacientes com suspeita clínica de FC durante um período de 10 anos, os quais tiveram suas amostras de suor analisadas tanto pela titulação do  $\text{Cl}^-$  como pela medida da condutividade. O padrão-ouro para diagnóstico da FC foi a dosagem de  $\text{Cl}^-$  maior que 60 mmol/L. Foi observada uma mediana de condutividade de 111 mmol/L (82 a 148) para pacientes com FC e 36 mmol/L (12 a 89) para pacientes sem FC. Calcularam o melhor valor de ponto de corte para o diagnóstico de FC como maior ou igual a 90 mmol/L, com sensibilidade de 99,66%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 99,97%. O melhor valor de ponto de corte da condutividade para excluir o diagnóstico de FC foi menor que 75 mmol/L, com sensibilidade de 99,25%, especificidade de 93,37%, valor preditivo positivo de 99,28% e valor preditivo negativo de 93,12% (Quadro 1.1) (Lezana et al., 2003).

No Brasil, Riedi e colaboradores compararam a condutividade com a dosagem de  $\text{Na}^+$  na mesma amostra de suor e concluíram que a avaliação da condutividade pelo sistema Wescor simplifica o método, permite analisar amostras de menor volume e apresenta boa correlação com a dosagem de  $\text{Na}^+$  por fotometria de chama (Quadro 1.1) (Riedi et al., 2000).

Também no Brasil, em São Paulo, Mattar e colaboradores, em estudo recente realizado no Instituto da Criança compararam os valores de  $\text{Cl}^-$  no suor obtidos pelo TSCI com os valores de condutividade no suor obtidos pelo TSCo em pacientes com e sem FC. Analisaram também o custo e o tempo despendidos na execução de cada teste. Os pontos de corte para o TSCo, para excluir ou diagnosticar FC, foram  $< 75$  e  $\geq 90$

mmol/L, respectivamente, e, para o TSCl, foram  $Cl^- < 60$  e  $\geq 60$  mmol/L. Cinquenta e dois pacientes com FC (29 do sexo masculino e 23 do sexo feminino; de 1,5 a 18,2 anos) realizaram os dois testes, apresentando valores medianos de  $Cl^-$  e condutividade no suor de 114 e 122 mmol/L, respectivamente. Em todos, a condutividade foi  $\geq 95$  mmol/L, o que conferiu ao teste 100% de sensibilidade (IC95% 93,1-100). Cinquenta pacientes sem FC (24 do sexo masculino e 26 do sexo feminino; de 0,5 a 12,5 anos) apresentaram valores medianos de  $Cl^-$  e condutividade no suor de 15,5 e 30 mmol/L, respectivamente. Em todos, a condutividade foi  $< 70$  mmol/L, o que conferiu ao teste 100% de especificidade (IC95% 92,9-100). O tempo de execução foi mais rápido, e o custo, menor na execução do TSCo em relação ao TSCl (Quadro 1.1) (Mattar et al., 2010).

Quadro 1.1 – Estudos comparativos entre a dosagem quantitativa de cloreto e a condutividade

Autor(es) e ano	População	Idade			Valores de cloreto							Condutividade				Reprodutibilidade			Validade S,E,VPP,VPN,ROC		
		média(sd)	amplitude	mediana	volume (mg)	volume médio (mg)	ponto de corte (mmol/L)	média	mediana	Amplitude	perda%(n)	volume (ul)	ponto de corte (mmol/L)	média	amplitude	mediana	perda	r Cond xTSCI		r Cond xTSNa	Bland-Altman
Hammond et al (1994) cloreto/Macroduct®	FC=43		7d a 37a	2,5m			>80	98,8(9,8)		77 a 117		0,7(8)	15	≥80	113,1(9,9)	90-136		5	0,97	0,99	
	S=471		3d a 78a	7m				16,4(8,5)		5 a 60					33,4(11,2)	13-87					
Healey et al (2000) Macroduct®	FC=57		3a10m	0,5m a 15a				99 (18)		46 a 123		22			110(13)	67-141		1,4(3)			
	C=154		2a10m	0,5m a 14,6				14(8)		4 a 47					37(10)	18-71					
Mastella et al (2000) cloreto/Macroduct®												15						9,1(29)		X	
	FC=113		0,8m a 37,9a	11,6a				>70	95,7(16,5)		32 a 121			≥88	112 (17,8)	45 - 173					
	S=192		0,4m a 46,1a	3,9a				16,3(10,8)		4 a 60					39,8 (14,4)	19 - 87					



Quadro 1.1 – Estudos comparativos entre a dosagem quantitativa de cloreto e a condutividade (continuação)

Autor(es) e ano	População	Idade			Valores de cloreto							Condutividade			Reprodutibilidade			Validade			
		média(sd)	amplitude	mediana	volume (mg)	volume médio (mg)	ponto de corte (mmol/L)	média	mediana	amplitude	perda%(n)	volume (ul)	ponto de corte (mmol/L)	média	amplitude	mediana	perda		r CondXTSCI	r CondXTSNa	Bland-Altman
Riedi et al (2000) Macroduct®	FC=31				15							280	118,5 (16,1)	84 - 155				0,99	0,91		
	S=175												40,5 (14,1)	16 - 75				0,94			
Van der Merwe et al (2002) cloreto/Macroduct®	FC=20		14a	1- 45a							260	120	93-143								
	adultos saudáveis=15		31a	20- 40a								44	18-55								
	crianças saudáveis=20		1a	2m- 24m								38,9	17-57								
Lezana et al (2003) Macroduct®	FC=294		1m - 54a	1,8a							50	290	(82 - 148)	111							X
	C=3540												(12 - 89)	36							



## **Capítulo 2 – Hipóteses, Objetivos e Aspectos Éticos**

### **2.1 Hipóteses**

- 1ª hipótese: Os valores da condutividade obtidos no braço direito (BD) são iguais aos obtidos no braço esquerdo (BE).
- 2ª hipótese: A classificação diagnóstica do padrão-ouro é igual à obtida pelo teste do suor pela condutividade.

### **2.2 Objetivos**

#### **2.2.1 Objetivo Geral**

- Verificar a reprodutibilidade e a validade do teste do suor pela condutividade.

#### **2.2.2 Objetivos Específicos**

- Descrever as características demográficas do paciente com diagnóstico e do paciente com suspeita de FC.
- Analisar os volumes de suor e os valores de condutividade obtidos pelo TSCo.
- Avaliar a reprodutibilidade intraobservador do TSCo, comparando as medidas do BD com as medidas do BE.
- Avaliar o desempenho do TSCo pela sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo, tendo, como padrão-ouro, o TSCI.

### **2.3 Aspectos Éticos**

Este trabalho foi submetido à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF (CEP-IFF) e aprovado (Anexo 1). Por tratar-se de estudo que lida com seres humanos, é necessária a discussão das questões éticas envolvidas. Foram seguidas as recomendações do documento “diretrizes e normas regulamentadoras da pesquisa envolvendo seres humanos” – resolução 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde, preconizando os princípios de autonomia, beneficência, não-maleficência, justiça e equidade.

O risco que o estudo traz aos participantes é o de haver queimadura leve na área estimulada, relatada em 1% dos casos.

O IFF apresenta infraestrutura adequada para a realização do exame. As informações geradas pelo estudo são de propriedade do pesquisador e da instituição à qual pertence. A identidade dos participantes foi mantida em sigilo durante todas as etapas da pesquisa.

Todos os responsáveis pelos pacientes menores, que aceitaram submeter-se ao TSCo, leram e foram esclarecidos sobre o procedimento, seguindo-se a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1).

Os resultados do presente estudo, que faz parte de dois projetos maiores de tecnologias diagnósticas para FC, na rede SUS (PDTSP - FIOCRUZ / FAPERJ - PROJETO PENSA RIO), serão apresentados nos respectivos relatórios de prestação de contas dos projetos e nesta dissertação de mestrado. Após autorização dos coordenadores, os resultados poderão ser divulgados em artigos científicos, congressos, simpósios, reuniões científicas e demais atividades de ensino, pesquisa e assistência. Os orientadores, os coordenadores do projeto e a autora desta dissertação assumem o

compromisso de divulgação pública dos resultados deste estudo, mesmo que os resultados não sejam favoráveis.

### **Capítulo 3 - Artigo:** Reprodutibilidade e validade do teste de suor pela condutividade em centro de referência para Fibrose Cística (FC) do Rio de Janeiro

#### **3.1 Resumo**

Este estudo teve como objetivo avaliar a reprodutibilidade e a validade do teste do suor pela condutividade. Trata-se de estudo observacional, seccional, prospectivo, realizado no Instituto Fernandes Figueira, centro de referência para FC no Rio de Janeiro, entre julho e setembro 2010. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Foram incluídos pacientes com FC e pacientes com suspeita de FC referidos para a realização do teste de suor. No teste do suor pela condutividade, foi utilizado o sistema Macroduct® para a coleta de suor e o Sweat-ChekAnalyser® para a medida da condutividade, que teve como pontos de corte os valores de 75 e 90 mmol/L. A estimulação e coleta do teste do suor padrão-ouro foram feitas pela técnica de Gibson & Cooke e a dosagem de  $Cl^-$ , pela análise colorimétrica. Valores acima de 40 e 60 mmol/L foram considerados positivos, respectivamente, para crianças menores e maiores de 6 meses. A reprodutibilidade foi avaliada pelas medidas de condutividade feitas em ambos os braços, no mesmo dia, em 81 pacientes, por meio do coeficiente de correlação e pelo método de Bland-Altman para diferença entre as médias de medidas repetidas. Para avaliar o desempenho do teste da condutividade, 129 medidas do braço direito foram comparadas com os valores de  $Cl^-$  obtidos pelo teste do suor. Para a análise dos dados, foram utilizados Epi Info 3.5.3 e R 2.8.1, que estimaram a média, mediana, amplitude e percentis. Na população do estudo (n=129), 55% eram do sexo feminino, 60,5%, brancos e 99,2%, residentes no RJ. A mediana da idade foi de 52 meses. No grupo de FC (n= 42), 61,9% eram do sexo feminino, com mediana de idade de 117,5 meses, com mínimo de 13 e máximo de 229 meses, e 52,4% eram brancos. No grupo de suspeitos de FC (n=87), 51,7% eram do sexo feminino, com mediana de idade de 33 meses com mínimo de 1 e máximo 211 meses, e 64,4% eram brancos. A condutividade no braço direito (n=81) apresentou média de  $68,41 \pm 46,49$  mmol/L e no braço esquerdo, foi de  $66,88 \pm 43,52$  mmol/L. O coeficiente de correlação foi de 0,97 e a diferença das médias foi de  $1,53 \pm 10,69$  mmol/L com limites de concordância de 95% variando entre -19,43 e 22,49. A condutividade no braço direito de 129 pacientes apresentou média de  $70,17 \pm 45,60$  mmol/L, e para a concentração de  $Cl^-$ , a média foi de  $36,75 \pm 37,58$  mmol/L. O coeficiente de correlação foi de 0,85, sensibilidade 89%, especificidade 92%, valor preditivo positivo 82,5% e valor preditivo negativo 95,5%. O estudo confirmou os resultados de estudos anteriores e sugere que a condutividade é um procedimento analítico de confiança para o diagnóstico de FC, apresentando uma boa correlação com a concentração de  $Cl^-$ .

#### **3.2 Abstract**

This prospective study evaluated the reproductibility and validity of the conductivity sweat test at Instituto Fernandes Figueira, reference center for CF in Rio de Janeiro, between July and September 2010. It was approved by Ethics and Research Committee. We included patients with CF and patients with questionable of CF, that were referred for sweat testing. The conductivity sweat test was performed by Macroduct® sweat collector system and Sweat-ChekAnalyser® to measure the conductivity, and the cutoff

values were 75 and 90 mmol / l. The gold standard sweat test was performed by Gibson & Cooke techniques of stimulation and collection, and the dosage of chloride was made by colorimetric analysis. Values above 40 and 60 mmol / l were considered positive, respectively, for younger children and older than 6 months. Reproducibility was assessed by conductivity measurements made on both arms, on the same day in 81 patients, using the correlation coefficient and the Bland-Altman plot for the mean difference between repeated measurements. To evaluate the performance of conductivity sweat test, 129 measures of the right arm were compared with values obtained by chloride sweat test. For the analysis of data were used Epi Info 3.4.1 and R 2.8.1, which estimated the mean, median, range and percentiles. In the study population (n = 129), 55% were female, 60.5% white and 99.2% residents in Rio de Janeiro - RJ. The median age was 52 months. In the FC group (n=42), 61.9% were female, with a median age of 117.5 months with a minimum of 13 and maximum of 229 months and 52.4% were white. In the group suspected of FC (n = 87), 51.7% were female, with a median age of 33 months with a minimum of 1 and maximum of 211 meses and 64.4% were white. The conductivity on the right arm (n = 81) showed an average of  $68.41 \pm 46.49$  mmol / l and on the left arm was  $66.88 \pm 43.52$  mmol/L. The correlation coefficient was 0.97 and the mean difference was  $1.53 \pm 10.69$  mmol/ l with limits of agreement of 95% ranging between -19.43 and 22.49. The conductivity on the right arm of 129 patients had an average of  $70.17 \pm 45.60$  mmol/L, and for chloride concentration, the average was  $36.75 \pm 37.58$  mmol / l. The correlation coefficient was 0.85, sensitivity 89%, specificity 92%, positive predictive value 82.5% and negative predictive value 95.5%. The study confirmed the results of previous studies and suggests that the conductivity is a reliable analytical procedure for the diagnosis of CF, presenting a good correlation with the concentration of chloride.

### 3.3 Introdução

A Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva, cujas mutações no gene da proteína reguladora da condutância transmembrana são responsáveis por suas características fisiopatológicas. Atualmente, encontram-se descritas 1864 mutações relacionadas a FC<sup>1</sup>. Na Europa, a incidência média da doença é de 1:3200 nascidos vivos e, nos EUA, é de 1:3500 nascidos vivos<sup>2</sup>. A estimativa pontual para o Brasil é de 1:7576 nascidos vivos (IC 95% 1:3633-1:15802) e, neste intervalo, acha-se incluída a estimativa da FC no Rio de Janeiro, de 1:6902 nascidos vivos<sup>3</sup>. Devido à heterogeneidade na composição étnica da população brasileira, facilitada pela migração dos povos, a incidência da FC, assim como a frequência no espectro das mutações, pode variar de acordo com as diferentes regiões do país<sup>4</sup>.

O diagnóstico, quando feito precocemente e seguido de tratamento, reduz a morbimortalidade e melhora a qualidade de vida<sup>5</sup>. No entanto, ele vem sendo feito com atraso<sup>6</sup>, inclusive em nosso país<sup>7,8</sup>. Mais recentemente, houve mais uma confirmação do atraso e a evidência do diagnóstico de formas graves<sup>9</sup> e o Ministério da Saúde (2005) reconhece a existência de subdiagnóstico da FC e da falta de regulamentação e padronização do atendimento<sup>10</sup>.

Os testes diagnósticos da FC são: dosagem de eletrólitos no suor, análise das mutações e medida da DPN<sup>11,12</sup>. O teste do suor pela dosagem de eletrólitos, que analisa, principalmente, a concentração de Cl<sup>-</sup> (TSCI) pelo método titulométrico, foi descrito, originalmente, por Gibson e Cooke (1959)<sup>13</sup> e, até hoje, é considerado padrão-ouro. O TSCI requer equipe profissional adequadamente treinada e capacitada, com estrita aderência às normas preconizadas pela Sociedade de Patologia Clínica<sup>14</sup>. Devido a grande dependência da habilidade do operador, o TSCI é suscetível a erros, técnicos ou de análise, tais como a não secagem da pele antes de iniciar a coleta, erros na



pesagem do papel-filtro ou na diluição e eluição do suor, coleta de volume insuficiente de suor causada por baixa taxa de sudorese ou pela presença de edema<sup>15</sup>. Para garantir a qualidade do teste, busca-se reduzir resultados falso-positivos e falso-negativos, que tem sido estimados em 15% e 12%, respectivamente<sup>14,16</sup>.

Métodos alternativos de coleta e análise do suor têm sido propostos, como, por exemplo, o teste do suor pela condutividade (TSCo). O consenso da CFF aceita que as etapas de estimulação e de coleta do TSCo possam ser utilizadas como etapas do teste diagnóstico, mas não aceita o valor da análise da condutividade como diagnóstico de FC, sendo apenas aceito como triagem<sup>16</sup>. No entanto, vários estudos mostraram que esse teste pode ser aplicável no diagnóstico da FC<sup>17,18</sup>.

O presente estudo, além de avaliar a reprodutibilidade intra-observador e a validade do TSCo no diagnóstico da FC, se propõe a analisar os volumes de suor coletados pelo TSCI e pelo TSCo.

### **3.4 Métodos**

Trata-se de estudo seccional, prospectivo e observacional, realizado entre 01/07 e 30/09/2010, no Instituto Fernandes Figueira (IFF), Unidade Materno-Infantil da Fiocruz, reconhecida como Centro de Referência para Fibrose Cística (CRFC) do estado do Rio de Janeiro. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF.

A população elegível foi constituída por 105 pacientes com FC, em seguimento nos serviços de Pneumologia e Nutrição, com o diagnóstico definido segundo os critérios propostos pelo consenso da CFF<sup>11</sup>, por apresentar TSCI e/ou análise genética positivos, e por pacientes, em média de 40 por semana, referidos para a realização do TSCI por suspeita de FC. Desse modo, a amostra do estudo foi de conveniência, constituída por parcela da coorte de FC que compareceu às consultas previamente

agendadas e por parcela de pacientes referida para o TSCI, também previamente agendado.

Foram excluídos os RN com idade menor que duas semanas de vida e com peso menor que três kg, e os pacientes com distúrbio hidroeletrólítico, edema, sinais de doença aguda, hipotireoidismo, comprometimento cutâneo nos locais de estimulação sob a forma de eczema ou displasia ectodérmica, em uso de corticoterapia sistêmica e em uso contínuo de oxigênio por sistema de distribuição aberta<sup>11,19</sup>.

Foram incluídos os pacientes com FC que compareceram à consulta e os pacientes com a suspeita de FC que compareceram à coleta do suor. Foi respeitado o limite diário da capacidade de realização do teste, uma vez que havia somente um pesquisador.

### **3.4.1 Materiais**

A condutividade dos ânions do suor obtida pelo *Sweat-Check Analyser*®, após coleta do suor pelo sistema *Macroduct*® (*Wescor Inc. Logan, Utah*)<sup>20</sup> tem a finalidade de medir a condutividade elétrica do suor em função de sua composição iônica, mantida à temperatura constante, de aproximadamente 40°C<sup>21</sup>, em sistema fechado, para não haver evaporação. As etapas do procedimento seguiram o manual do equipamento e já foram descritas<sup>17,22</sup>, incluindo, entre elas, a calibração. Os equipamentos e materiais de consumo para a execução da pesquisa foram adquiridos com recursos provenientes da FAPERJ e FIOCRUZ. No projeto piloto, foram realizados os ajustes necessários para que a técnica funcionasse em padrão internacional descrito na literatura. A pesquisadora recebeu treinamento/capacitação no Instituto da Criança (USP), em 2008.

A quantificação do volume de suor coletado é pré-requisito para a realização da análise<sup>17,18,22</sup> do suor. Neste estudo, o volume do suor foi calculado com a medida do

diâmetro interno de  $0,64\text{mm}^{21}$  e com a medida do comprimento do cilindro coletor preenchido por suor, o qual foi estendido sobre uma régua metálica milimetrada, segundo a fórmula:

$$\text{Volume} = \pi * \text{raio}^2 * \text{comprimento do cilindro com suor}$$

Para a execução do teste padrão-ouro (TSCI), foram seguidas todas as etapas conforme citadas na literatura<sup>14,18,19,23,24</sup>.

### 3.4.2 Reprodutibilidade do teste

Um teste é reprodutível quando é capaz de reproduzir o mesmo resultado em medidas repetidas. A reprodutibilidade pode ser intraobservador e interobservador. A primeira mede a variação que ocorre na medida feita pelo mesmo observador como resultado de múltiplas exposições ao mesmo instrumento e/ou ao mesmo indivíduo, ao passo que a segunda avalia o quanto diferentes observadores fornecem estimativas compatíveis de um mesmo fenômeno<sup>25</sup>.

Para avaliar a reprodutibilidade, os participantes foram convidados a realizar dois TSCo em sequência ou simultaneamente, um em cada braço, e por um único pesquisador. A primeira medida foi sempre realizada no braço direito (BD) e a segunda, no braço esquerdo (BE).

### 3.4.3 Validade do teste

Existem vários tipos de validade, sendo as principais as validades de conteúdo, de face e de critério. As validades, concorrente e preditiva, são subdivisões da validade de critério, que é uma correlação do teste em estudo com um teste padrão-ouro. A validade concorrente é usada quando se quer substituir um teste por um outro mais simples, de menor custo ou menos invasivo<sup>25,26</sup>. Um teste é validado quando, ao ser

comparado a um padrão-ouro, consegue medir aquilo a que se propõe, apresentando propriedades satisfatórias de sensibilidade, especificidade e de valores preditivos positivo e negativo<sup>25,26</sup>.

No estudo proposto, o critério de padrão-ouro considerado foi o resultado do teste do suor realizado com a dosagem quantitativa do  $\text{Cl}^-$  (TSCI). Estas medidas contínuas são categorizadas de acordo com valores de referência para teste positivo, para maiores de 6 meses de idade, de  $\text{Cl}^- \geq 60 \text{ mmol/L}$  e, para menores de 6 meses de idade, de  $\text{Cl}^- \geq 40 \text{ mmol/L}$ <sup>14</sup>. Este teste foi complementado pelo teste genético, quando disponível. Para verificar a validade concorrente do teste da condutividade dos íons no suor, os valores do TSCo do BD foram comparados com os valores do  $\text{Cl}^-$  no suor, obtidos por titulometria (TSCI)<sup>13</sup>. No TSCo, o valor de referência adotado para teste positivo foi de condutividade  $\geq 90 \text{ mmol/L}$ <sup>17,18</sup>.

No grupo de pacientes referidos por suspeita de FC, ambos os testes, ou seja, o TSCo e o TSCI, foram realizados no mesmo dia ou no intervalo máximo de 7 dias, em ambientes diferentes, por profissionais independentes. Não existiu qualquer comunicação entre os dois técnicos durante o procedimento, nem acesso aos resultados.

Os valores de TSCI dos pacientes da coorte de FC foram obtidos dos bancos de dados, os quais contém os valores de TSCI que estão registrados nos prontuários dos pacientes.

#### **3.4.4 Análise dos Dados**

Foram descritos os resultados por meio de médias ou medianas, com os respectivos indicadores de variabilidade e os intervalos de confiança. Foram investigadas as distribuições de probabilidade dos resultados dos testes. A exploração gráfica foi feita por histogramas, gráficos de barras e diagramas de dispersão nos

programas Epi Info 3.5.3<sup>27</sup> e R 2.8.1<sup>28</sup>. Para a análise da reprodutibilidade intraobservador das variáveis numéricas contínuas foi realizada a regressão linear e foi estimado o  $r$  de Pearson, embora se saiba que a análise de correlação avalia a associação entre duas medidas onde os vieses das medidas não são percebidos. A verificação da repetibilidade e da reprodutibilidade foi feita pelo teste  $t$  pareado entre as medidas repetidas e pelo método de Bland-Altman<sup>29,30</sup>. Este é o método mais utilizado atualmente para avaliar se duas medidas da mesma amostra são iguais e qual a magnitude dos desvios da igualdade. O método de Bland-Altman calcula as diferenças entre duas medidas da mesma variável para cada indivíduo, sendo a média e o desvio-padrão destas diferenças a base para o cálculo dos limites de concordância. Se as diferenças forem normalmente distribuídas, pode-se avaliar a precisão dos limites de concordância, estimados a partir do cálculo de seu erro padrão. É também possível visualizar o viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero), o erro aleatório (a dispersão dos pontos das diferenças ao redor da média), além de visualizar *outliers* e tendências<sup>29,30</sup>.

Além dos pontos de corte do TSCI para a definição de verdadeiro-positivos, outros pontos de corte foram explorados<sup>19</sup> na análise da validade concorrente. Por se tratar de um teste diagnóstico, foram calculadas as propriedades do TSCo, comparando-as com o TSCI, padrão-ouro. Estas propriedades são sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Entende-se por sensibilidade a proporção de indivíduos classificados como positivos pelo TSCo, dentro de um conjunto de indivíduos com o TSCI positivo. A especificidade, como a proporção de indivíduos classificados como negativos pelo TSCo, dentro de um conjunto de indivíduos com TSCI negativo. O valor preditivo positivo é a proporção de indivíduos que, realmente, apresentam TSCI positivo, dado que o TSCo foi positivo. O valor preditivo negativo é a

proporção de indivíduos que, realmente, apresentam TSCl negativo, dado que o TSCo foi negativo<sup>26</sup>.

### 3.5 Resultados

A população do estudo compreendeu 129 pacientes, com a mediana de idade de 52 meses, predomínio do sexo feminino (55%) e da cor branca (60,5%). A maioria (80,6%) residia no município e região metropolitana do RJ, de onde foram referidos para o CRFC-RJ, IFF, à exceção de um paciente proveniente de Rio Branco, no Acre (Tabela 3.1).

O TSCo foi realizado em 42(32,6%) pacientes com FC, em seguimento nos ambulatórios de Pneumologia e Nutrição; e em 87(67,4%) pacientes referidos para realização de TSCl com a suspeita de FC (SFC). No grupo FC, a mediana de idade foi de 117,5 meses(13-229), e, no grupo SFC, de 33 meses(1-211), havendo, em ambos os grupos, predomínio do sexo feminino e da cor branca (Tabela 3.1).

No TSCo, houve uma perda de 1,5%(2/135) dos participantes porque não foi possível coletar suor em dois pacientes com idades de 17 e 16 meses, sendo que neste último, foram feitas 3 tentativas. Já no TSCl, 3,7%(5/135) dos pacientes não apresentaram sudorese coletável, e um deles já não havia conseguido suar para realizar o TSCo. Em 11,6%(15/129) dos pacientes, a quantidade de suor obtida pelo sistema de coleta Macroduct® foi maior que 6 $\mu$ L, porém menor que 15 $\mu$ L. A distribuição dos valores de TSCo no BD, nos grupos, pode ser vista na Figura 3.1. Não houve diferença significativa nos volumes de suor coletados entre o grupo FC e o grupo SFC (Tabela 3.1).

Em todos os exames, a mediana dos valores da condutividade foi de 48(15-181), e a média, de 70,2(45,6) no BD. Ambas foram superiores às obtidas no BE, com a mediana de 44(18-151) e a média de 66,9(43,5) mmol/L.

As diferenças entre as médias e medianas da condutividade entre o grupo FC e o grupo SFC foram estatisticamente significativas ( $p < 0,00001$ ), tanto nas aferições feitas no BD, quanto no BE, e foram mantidas entre os grupos quando estratificados por faixa etária (Tabela 3.1).

O gráfico da dispersão e a reta de regressão linear entre as 81 aferições repetidas podem ser vistos na Figura 3.2. A exploração inicial da correlação revelou um  $r$  de Pearson de 0,97 (IC95% 0,96-0,98), com um coeficiente de determinação de 0,95. Os coeficientes estimados pelo modelo de regressão linear foram intercepto de 4,5 e beta de 0,91, resultando na seguinte equação: Condutividade BE =  $4,5 + 0,91 \cdot \text{condutividade BD}$ . Desse modo, a reta não passou pela origem, e o coeficiente angular foi igual a  $45^\circ$ , tornando-se necessário investigar a reprodutibilidade por outro método.

Pelo método de Bland-Altman (Figura 3.3), verificou-se que a média das diferenças entre as aferições repetidas foi de 1,5 mmol/L e que o erro padrão da média das diferenças foi de 10,7. Os limites de concordância de 95% para a diferença foram de -19,4 a 22,5. O histograma das diferenças (Figura 3.4) mostrou que o grupo de FC responde por maiores diferenças e pela maioria das diferenças positivas, BD maior que BE, enquanto que no grupo SFC as diferenças são menores e têm tendência negativa: BE maior que BD.

A hipótese nula de que a média das diferenças seria igual a zero não foi rejeitada no teste  $t$  pareado ( $p < 0,20$ ), portanto não havendo evidência de um erro sistemático ou viés entre as duas medidas, fato este confirmado pela inclusão do zero no IC da média das diferenças, -0,83 a 3,89. No gráfico de Bland-Altman, observou-se que, quanto

mais elevado for o valor da condutividade, maior será a diferença entre as aferições, ou seja, observou-se uma tendência de aumento das diferenças entre as aferições repetidas na medida em que houve aumento no valor médio das aferições. As aferições de cinco pacientes extrapolaram os limites de concordância, produzindo valores atípicos, ou *outliers* (Figura 3.3).

No estudo de validade, 129 pacientes apresentaram média global de 70,2(45,6) nos valores da condutividade e média de 36,8(37,6) mmol/L nos valores de  $\text{Cl}^-$ . As diferenças entre as medidas resumo da condutividade e do  $\text{Cl}^-$  nos grupos FC e SFC foram estatisticamente significativas, com  $p < 0,00001$  (Tabela 3.1).

A exploração inicial pelo diagrama de dispersão com a reta de regressão pode ser vista na Figura 3.5. O  $r$  de Pearson foi 0,84 e o coeficiente de determinação foi 0,71. A equação de regressão linear na busca da associação entre as duas variáveis foi a seguinte: Condutividade no BD =  $31,33 + 1,08 * \text{valor de } \text{Cl}^-$ .

Quando adotados, o valor de condutividade  $\geq 90$  mmol/L, como ponto de corte para TSCo, e o valor de  $\text{Cl}^- \geq 60$  mmol/L, como ponto de corte para o TSCl, padrão-ouro, foram observados 33 pacientes verdadeiro-positivos, 85 verdadeiro-negativos, 7,6%(7/92) falso-positivos e 10,8%(4/37) falso-negativos. As propriedades do TSCo foram sensibilidade=89%, especificidade=92%, valor preditivo positivo=82,5% e valor preditivo negativo=95,5%.

As características do nível de assistência do IFF, por ser um CRFC para investigação diagnóstica da FC, nos motivaram a explorar outros pontos de corte. Ao reduzir o ponto de corte no valor da condutividade para 75 mmol/L, a sensibilidade e o valor preditivo negativo aumentam para 100%, porém elevando também os falso-positivos para 12%(11/93), e foram reduzidos a especificidade=88% e o valor preditivo positivo=77,1%. Ao manter o ponto de corte no TSCo em 75 mmol/L e reduzir o ponto



de corte do  $\text{Cl}^-$  para 40 mmol/L, a sensibilidade e o valor preditivo negativo ficam mantidos em 100%, porém se elevam a especificidade=94% e o valor preditivo positivo=89,6%, obtendo uma diminuição dos falso-positivos para 5,8% (5/86).

### 3.6 Discussão

O TSCo foi reprodutível e conseguiu discriminar os pacientes com FC daqueles referidos para o TSCI, cujos resultados foram inferiores aos pontos de corte estabelecidos para o diagnóstico. Nas análises de amostras de suor, sejam quais forem as técnicas de coleta utilizadas, é essencial avaliar o volume coletado. Neste estudo, para aferir com precisão o volume de suor contido no espiral plástico do sistema Macroduct®, este foi estirado linearmente sobre uma régua metálica para cálculo de seu comprimento, e conseqüentemente, do volume de suor. O manual do aparelho do TSCo vem acompanhado de um referencial de volume, que reproduz o disco em espiral do sistema Macroduct®, com alguns pontos com volumes previamente identificados. Por comparação, o examinador avalia o volume do suor coletado entre duas marcas. A questão é que esta avaliação não é precisa, pois não necessariamente o volume de suor coletado se localiza em um ponto correspondente às marcas prévias de volumes identificados.

Mesmo considerando a variação individual, os pacientes, após estimulação por 5 minutos, produzem, em média, 18  $\mu\text{l}$  de suor durante 30 minutos de coleta<sup>14</sup>. A taxa de produção do suor deve ser superior a 1g/m<sup>2</sup>/minuto<sup>16,31</sup> para assegurar resultados com acurácia. Embora no TSCo deste estudo tenha sido coletado um volume maior de suor no grupo FC em relação ao grupo SFC, a produção de suor não difere entre os grupos<sup>17</sup>.

Não existe consenso quanto ao valor mínimo do suor coletado que possibilite realizar a análise bioquímica sem cometer erros. A literatura refere que o volume de

suor coletado pelo sistema Macroduct® recomendado para prosseguir à análise seja de 15 µl<sup>15,16</sup>. De acordo com as instruções do manual do aparelho 3120 Sweat-Check<sup>23</sup>, a quantidade mínima de suor necessária para a análise é de 6 µl, valor utilizado no estudo de Lezana e colaboradores<sup>19</sup> em 3084 TSCo.

No presente estudo, 1,5% dos pacientes (2/135) não produziu volume de suor adequado para prosseguir na análise da condutividade, sendo esta percentagem inferior às obtidas por Hammonde colaboradores<sup>18</sup>, de 6,1%(67/1090), e por Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, de 9,1%(29/318), por Mattar e colaboradores<sup>23</sup>, de 4,2%(6/141) e semelhante à taxa de perda de Heeley e colaboradores<sup>32</sup>, que foi de 1,4%(3/211), sendo que, neste último, o volume mínimo de suor requisitado era de 22µl. No Brasil, recentemente, Reis e Santos<sup>33</sup> tiveram 3,3% de suor insuficiente em 457/13506.

Existem muitos fatores que influenciam o volume de suor, tais como: idade, peso, cor, condições da pele e o sistema de coleta. Por exemplo, bebês com menos de dois kg, menores que 38 semanas, ou de origem africana, tendem a produzir menos suor<sup>15,16,34</sup>. É importante destacar que alguns estudos obtiveram maior taxa de coleta de suor insuficiente pelo sistema Macroduct® quando comparados com a coleta feita por gaze (TSCI). Hammonde colaboradores<sup>18</sup>, que utilizaram esses dois métodos, simultaneamente, para a coleta de suor nos dois braços, obtiveram volume de suor insuficiente em 0,7% dos pacientes (8/1090), na coleta por gaze, percentual inferior ao obtido pelo sistema Macroduct®, de 6,1% (67/1090), e também próximo a 9,1% obtido por Mastella e colaboradores<sup>24</sup>.

Entre as recomendações da CFF aos laboratórios, aceita-se, como razoável, uma taxa de coleta do suor insuficiente do TSCI inferior a 5% nas crianças com idade acima de 3 meses<sup>16</sup>.

Teoricamente, o TSCo teria uma menor chance de erro, pois o TSCI depende muito mais da manipulação do examinador, incluindo diversas etapas, como pipetagem, pesagem da gaze/papel-filtro com a amostra de suor, diluição para titulação. Os modelos iniciais de coleta para análise da condutividade eram sistemas abertos, onde se perdia o suor, e, por isso, não se mostraram eficazes. A grande vantagem do Macroduct® é ser um sistema de coleta fechado e aquecido, o que evita a evaporação da amostra<sup>18</sup>.

O volume do suor obtido no BD variou de 6 a 15  $\mu\text{L}$  em 15,5%(20/129) dos pacientes. Com a repetição no BE, 5 destes pacientes produziram um volume adequado, restando 11,6% (15/129) com suor insuficiente. Destes 15, 53,3% realizaram apenas um exame no BD.

Uma possível explicação para a menor produção de suor pode ter sido a repetição do estímulo elétrico no mesmo braço, após um intervalo de 60 minutos entre o TSCI e TSCo, ainda que a estimulação não tenha sido realizada exatamente no mesmo local.

No gráfico de dispersão entre o volume do suor para TSCo no BD e o peso do suor para TSCI, não foi possível visualizar correlação linear. No TSCI, o menor peso de suor coletado foi 60mg, superior ao valor mínimo de 50mg<sup>14</sup>. Vale ressaltar que, nesta amostra de conveniência, somente participaram do estudo pacientes com peso de suor suficiente para a análise dos íons.

### **3.6.1 Estudo da Reprodutibilidade**

Foram comparadas as medidas de condutividade realizadas em BD e BE em 81 pacientes. Primeiramente, foi feito gráfico de dispersão entre as duas medidas, onde foi visualizada uma variabilidade maior para os valores mais altos de condutividade. Embora limitada, a primeira análise de regressão linear entre BD e BE mostrou forte

correlação, com  $r$  de 0,97 (IC 95% 0,96 a 0,98), semelhante ao  $r$  de 0,99, encontrado por Mastella e colaboradores<sup>24</sup>.

O gráfico de dispersão pela metodologia de Bland-Altman mostrou uma boa concordância entre as aferições da condutividade realizadas nos dois braços (Figura 3.2). A distribuição das diferenças foi, aproximadamente, normal. A não existência de erro sistemático ou viés - teste  $t$  não rejeitou ( $p < 0,20$ ) a hipótese nula de média igual a zero, mesmo incluindo 5 observações com valores atípicos. Tais resultados foram semelhantes aos de Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, cuja média das diferenças foi de 1,4(5,1)mmol/L, com IC 95%, -0,33 a 3,13, e limites de concordância de 95%, de -9 a 11, ao incluir 21 pacientes. Assim como Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, ficou evidenciado que, quanto maior for a média entre as medidas de condutividade, maior será a diferença entre a primeira e a segunda aferições (com o aumento da condutividade, os pontos encontram-se mais dispersos). Dessa forma, a abordagem do Bland-Altman permitiu a detecção visual do padrão de concordância entre os valores mensurados em BD e BE. Observações extremas e atípicas deverão ser submetidas a uma nova aferição e a uma posterior análise.

### 3.6.2 Estudo da Validade

No grupo FC, a média e a mediana da condutividade, tanto em BD como BE, foram próximas, com valores de média em BD de 128(23,2)mmol/L e em BE de 126,8(14,4)mmol/L, e de mediana em BD de 128(80-181)mmol/L e em BE de 129(82-151)mmol/L, todavia foram superiores aos valores encontrados nos estudos internacionais de Hammonde colaboradores<sup>18</sup>, com média de 113,1(9,9)mmol/L, Heeley e colaboradores<sup>32</sup>, com média de 110(13)mmol/L, Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, com média de 112(17,8), Van der Merwe e colaboradores<sup>35</sup>, com média de 120; Lezana e

colaboradores<sup>19</sup>, com mediana de 111, Losty e colaboradores<sup>36</sup>, com médias de 114. Foram também superiores aos encontrados nos estudos nacionais: Riedi e colaboradores<sup>22</sup>, com média de 118,5(16,1), Mattar e colaboradores<sup>23</sup>, com média de 119,7(11,6) e mediana de 122.

Os valores de  $\text{Cl}^-$  entre os FC foram inferiores aos valores encontrados na literatura. Hammond e colaboradores<sup>18</sup>, média de 98,8(9,8)mmol/L, Heeley e colaboradores<sup>32</sup>, média de 99(18)mmol/L, Mastellae colaboradores<sup>24</sup>, média de 95,7(16,5)mmol/L, Barbene colaboradores<sup>37</sup>, média de 108(2,3)mmol/L, Lostye colaboradores<sup>36</sup>, medianas de 119mmol/L (FC clássica) e 47mmol/L (FC não-clássica). Na literatura nacional, o estudo de Mattare colaboradores<sup>23</sup> apresentou média de 110,5(25,5)mmol/L e mediana de 114mmol/L. Tal achado nos obriga a rever as etapas de coleta e da análise bioquímica do suor que possam explicar o viés de aferição que estaria subestimando o real valor do  $\text{Cl}^-$ .

No grupo SFC, a média e mediana da condutividade em BD foram 42,3(20,4) e 37mmol/L e em BE, 38,6(12,9) e 36mmol/L, respectivamente, sendo valores próximos aos encontrados na literatura. Hammonde colaboradores<sup>18</sup> apresentou média de 33,4(11,2)mmol/L, Heeley colaboradores<sup>32</sup>, média de 37(10)mmol/L, Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, média de 39,8(14,4)mmol/L, Van der Merwe e colaboradores<sup>35</sup>, médias de 38,9mmol/L, Lezana e colaboradores<sup>19</sup>, mediana de 36mmol/L, Lostye colaboradores<sup>36</sup>, média de 39mmol/L. Foram também semelhantes aos valores encontrados nos estudos nacionais: Riedi e colaboradores<sup>22</sup>, com média de 40,5(14,1)mmol/L, Mattar e colaboradores<sup>23</sup>, com média de 34,4(13,5) e mediana de 30mmol/L.

As medidas de  $\text{Cl}^-$  nos suspeitos também foram inferiores aos valores encontrados na literatura. Hammond e colaboradores<sup>18</sup>, média de 16,4(8,5)mmol/L,

Heeley e colaboradores<sup>32</sup>, média de 14(8)mmol/L, Mastell e colaboradores<sup>24</sup>, média de 16,3(10,8)mmol/L, Barben e colaboradores<sup>37</sup>, média de 15(0,6)mmol/L, Losty e colaboradores<sup>36</sup>, mediana de 25mmol/L. Na literatura nacional, Mattar e colaboradores<sup>23</sup> apresentaram média de 17,4(10) e mediana de 15,5mmol/L. O viés de aferição se repetiu nesse grupo, corroborando a revisão do TSCl.

Mesmo assim, foi verificado que tanto o valor da condutividade (TSCo) como os níveis de  $\text{Cl}^-$  no suor (TSCl) apresentam diferença estatisticamente significativa entre os grupos FC e SFC (Tabela 3.1). Segundo a literatura, seria esperado encontrar um valor superior médio de 15mmol/L entre a condutividade e o valor de  $\text{Cl}^-$ , devido à presença de outros íons que são medidos quando se utiliza a condutividade<sup>17</sup>.

O gráfico de correlação entre valor da condutividade e nível de  $\text{Cl}^-$  no suor mostrou um coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,84, inferior ao estudo de Hammond et al. (1994)<sup>17</sup>, que foi de 0,99, tanto na comparação do  $\text{Na}^+$  do TSCo com o  $\text{Na}^+$  do TSCl, como na comparação do  $\text{Cl}^-$  do TSCo com o  $\text{Cl}^-$  do TSCl. Heeley e colaboradores<sup>32</sup> acharam que a medida da condutividade (TSCo) é tão efetiva quanto a dosagem de  $\text{Cl}^-$  (TSCl) no suor, assim com Mastella e colaboradores<sup>24</sup> que mostraram um  $r$  de 0,99 de correlação entre os dois testes. Já Lezana e colaboradores<sup>19</sup> encontraram coeficiente de correlação de Spearman de 0,60, pressupondo que os valores da condutividade e do  $\text{Cl}^-$  não seguem uma distribuição normal.

Para utilizar o TSCo como teste diagnóstico, adotou-se o ponto de corte  $\geq 90$ mmol/L<sup>19</sup>, embora não haja consenso na literatura. Valores inferiores são adotados por Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, com ponto de corte de 88mmol/L, Barben e colaboradores<sup>37</sup> e Losty e colaboradores<sup>36</sup>, com pontos de corte de 80mmol/L, valor também informado pelo manual de instruções do Macroduct®<sup>21</sup>.

Os resultados falso-positivos e falso-negativos em TSCl podem chegar a 15% e a 12%, respectivamente<sup>16</sup>. Ao comparar os pontos de corte, para diagnóstico, do TSCo (positivo  $\geq 90$ ) com o TSCl (positivo  $\geq 60$ ), as propriedades do TSCo, como teste diagnóstico, foram sensibilidade=89%, especificidade=92,4%, valor preditivo positivo=82,5% e valor preditivo negativo=95,5%, com 7,6% de falso-positivos e 10,8% de falso-negativos. Tais valores foram inferiores aos do estudo de Lezanae colaboradores<sup>19</sup>, onde foram encontrados S=99,7%, E=100%, VPP=100% e VPN=100%, resultados semelhantes aos do estudo de Mattare colaboradores<sup>23</sup> com S=100%, E=100%, VPP=100% e VPN=100%. Nesta última, a população de controles foi constituída por pacientes em seguimento no ambulatório de pneumologia, comprovadamente sem FC. De forma distinta, o presente estudo envolveu uma população de pacientes referidos para a realização de TSCl por manifestações clínicas – suspeitos de FC, tal como a população no estudo de Mastella e colaboradores<sup>24</sup>. Mesmo assim, as propriedades diagnósticas foram inferiores às do estudo de Mastella e colaboradores<sup>24</sup>, que, ao adotar como ponto de corte do TSCo, valor  $\geq 88$ mmol/L, e do TSCl, valor  $\geq 70$ mmol/L, tiveram sensibilidade=98,9%, especificidade=100%, valor preditivo positivo=100%, valor preditivo negativo=99,4%, sem falso-positivo e com 1,1% de falso-negativos.

Ao diminuir o ponto de corte do TSCo para 75mmol/L, porém mantendo 60mmol/L como ponto de corte do TSCl, as propriedades do teste passam para sensibilidade=100%, especificidade=88%, valor preditivo negativo=100, valor preditivo positivo=77,1. Os falso-positivos aumentam para 12%(11) e não ocorre falso-negativo. Ao manter o ponto de corte do TSC em 75mmol/L e diminuir o ponto de corte do TSCl para 40mmol/L, a sensibilidade se mantém em 100%, sem falso-negativo, enquanto que a especificidade aumenta para 94%, diminuindo os falso-positivos para 5,8%(5). Como

se trata de uma população referida para TSCI, há maior probabilidade de FC entre esses pacientes que têm suspeita da doença, se comparada à população geral. Portanto, justifica-se a necessidade de dispor de um teste do suor com maior sensibilidade, mesmo às custas de mais falso-positivos, para que não haja perda de fibrocísticos. No estudo brasileiro, realizado no Instituto da Criança, na cidade de São Paulo, por Mattare colaboradores<sup>23</sup>, houve forte associação entre TSC positivo e diagnóstico de FC pelo TSCI ( $p < 0,0001$ ).

De acordo com a literatura, a população do estudo de Lostye colaboradores<sup>36</sup> foi constituída por um grupo de FC (36), dividido em clássico e não-clássico; e por um grupo de suspeitos (64), formado por encaminhados por suspeita clínica e por triagem neonatal positiva, semelhante à população do presente estudo, tanto sob aspectos qualitativos como quantitativos. A população do presente estudo faz parte de uma situação assistencial própria de um CRFC. Portanto, os pacientes já chegam ao IFF referidos para a realização de TSCI, por suspeita de FC. Este teste diagnóstico é padrão-ouro e de mais fácil acesso, se comparado ao teste genético. Atualmente, a maioria dos pacientes não é oriunda do programa de triagem neonatal, sendo referida para investigação diagnóstica pela presença de manifestações clínicas. Dentre essas, a sintomatologia mais comum de referência é a respiratória<sup>9</sup>.

O IFF, que é CRFC no estado do Rio de Janeiro, realiza cerca de 160 TSCI por mês. No período de estudo, a maioria dos pacientes que foi referida para a realização do teste do suor e que aceitou participar apresentava idade entre 24 e 59 meses, com média de 51,5 meses (DP=49,7) e mediana de 38 meses (1-211). Isso demonstra a necessidade de preparação dos profissionais de saúde para que a suspeita diagnóstica seja feita mais precocemente, dando início ao tratamento. A mediana de idade é menor na maioria dos estudos da literatura<sup>18,19</sup>. Vale ressaltar que não temos a implantação do programa



nacional de triagem neonatal (PNTN) para FC no estado do Rio de Janeiro, o que retarda o diagnóstico e início do tratamento. A indicação de realização de teste do suor na paciente com idade de um mês foi devido à história familiar de FC.

O Governo do Estado deveria investir mais na qualificação dos profissionais de saúde para que haja suspeita precoce da doença, além de promover acesso ao teste do suor em outros locais e implementar o PNTN pelo SUS.

### **3.7 Conclusão**

Na população estudada, no grupo FC (n=42), 61,9% eram do sexo feminino, com mediana de idade de 117,5 (13-229) meses, 52,4% eram brancos e 45,2% residiam no município do Rio de Janeiro. Já no grupo de suspeitos de FC (n=87), 51,7% eram do sexo feminino, com mediana de idade de 33 meses (1-211), 64,4% eram brancos e 47,1% residiam no município de Rio de Janeiro.

Não houve diferença estatisticamente significativa nos volumes de suor coletados em BD e BE entre o grupo FC e o grupo com suspeita de FC. As diferenças entre as médias e medianas da condutividade entre o grupo FC e o grupo com suspeita de FC foram estatisticamente significativas, tanto nas aferições em BD quanto em BE.

O TSCo foi reprodutível e válido porque conseguiu discriminar os pacientes com FC daqueles com suspeita de FC referidos para o TSCL, cujos resultados foram inferiores aos pontos de corte estabelecidos para o diagnóstico. O TSCo apresentou sensibilidade de 89%, especificidade de 92%, valor preditivo positivo de 82,5% e valor preditivo negativo de 95,5%.

### 3.8 Referências Bibliográficas

1. CysticFibrosisMutationDatabase.  
[www.ccb.sickkids.ca/cystic-fibrosis-mutation-database.html](http://www.ccb.sickkids.ca/cystic-fibrosis-mutation-database.html)  
acesso em 27/02/2011.
2. WHO, 2009  
[www.who.in/ent/](http://www.who.in/ent/)  
acesso em 06/03/2009.
3. Cabello GM, Moreira AF, Horovitaz D, et al. Cystic fibrosis: low frequency of the DF508 mutation in 2 population samples from Rio de Janeiro, Brazil. *Human Biol.* 1999; 71:189-96.
4. 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. *J Cyst Fibros* 2008; 7:15-22.
5. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with Cystic Fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15 (2): 194-222.
6. Steinraths M, Vallance HD, Davidson AGF. Delays in diagnosing Cystic Fibrosis. *Can Fam Physician* 2008; 54: 877-83.
7. Reis FJC e Santos AEAB. Teste do suor: 21 anos de experiência. III Congresso Brasileiro de Fibrose Cística 01-04/09/2010  
[www.jornaldepneumologia.com.br](http://www.jornaldepneumologia.com.br)  
acesso em 10/12/2010.
8. Alvarez AE, Ribeiro AF, Hessel G, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Fibrose Cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. *J Pediatr (Rio J)* 2004; 80(5): 371-9.
9. Schwan PJ. Expressão da Fibrose Cística ao diagnóstico em um centro de referência do Rio de Janeiro [dissertação] Rio de Janeiro: Pós-Graduação em Saúde da Mulher, Criança e Adolescentes, Instituto Fernandes Figueira, Fiocruz, 2010.
10. Ministério da Saúde. Portaria nº 338 de 29 de junho de 2005. Sobre Fibrose Cística. <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/PT-338.htm>  
acesso em 27/02/2011.
11. Ministério da Saúde, 2005. Portaria N 338 de 29 de junho de 2005. Sobre Fibrose Cística.  
<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/PT-338.htm>  
acesso em 27/02/2011.

12. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of Cystic Fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998;132 (4): 589-95.
13. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in Cystic Fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23 (3): 545-9.
14. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, LeGrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr* 2008;153: S4-S14.
15. Sweat Test Guidelines, 2003  
[www.acb.org.uk/docs/sweat.pdf](http://www.acb.org.uk/docs/sweat.pdf)  
acesso em 27/02/2011.
16. Beauchamp M, Lands LC. Sweat-testing: A review of current technical requirements. *Pediatric Pulmonol* 2005; 39: 507-11.
17. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel Jr. P. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr* 2007; 151: 85-9.
18. Hammond KB, Turcios NL, Gison LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994; 124 (2): 255-60.
19. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya ME. Sweat conductivity and chloride titration for Cystic Fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros* 2003; 2 (1): 1-7.
20. Kleyn M, Korzeniewski S, Grigorescu V, Young W, Homnick D, Goldstein-Filbrun A et al. Predictors of insufficient sweat production during confirmatory testing for Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2010 n/a. doi: 10.1002/ppul.21318  
<http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppul.21318/pdf>  
acesso em 27/09/2010.
21. Macroduct sweat testing system.  
<http://www.wescor.com/biomedical/cysticfibrosis/macroduct.html>  
acesso em 24/02/2011.
22. Riedi CA, Zavadniak AF, Silva DC, Franco A, Rosário Filho NA. Comparação da condutividade com a determinação de sódio na mesma amostra de suor. *J Pediatr (Rio J)* 2000; 76 (6): 443-6.
23. Mattar AC, Gomes EN, Adde FV, Leone C, Rodrigues JC. Comparação entre o método clássico de Gibson e Cooke e o teste da condutividade no suor em pacientes com e sem Fibrose Cística. *J Pediatr (Rio J)* 2010; 86 (2): 109-14.

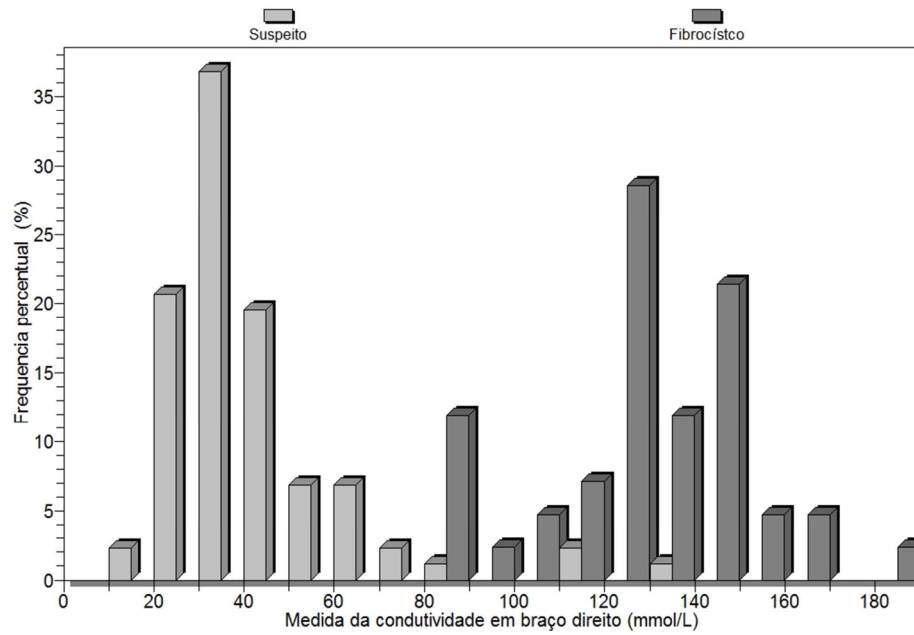
24. Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reability of sweat-testing by the macroduct collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr* 2000; 89 (8): 933-7.
25. Streiner DL, Norman GR. Health measurement scales: a practical guide to their development and use. Oxford: oxford University Press; 1995.
26. Fletcher RH e Fletcher SW. Diagnóstico. In: Fletcher RH e Fletcher SW. *Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais*. 4<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. P. 56-81.
27. CDC 2007. Epi Info, version 3.5.3.  
<http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/>  
acesso em 24/02/2011.
28. R 2.8.1. The R Project for Statistical Computing  
<http://www.r-project.org/>  
acesso em 24/02/2011.
29. Hirakata VN e Comey SA. Análise de concordância entre métodos de Bland-Altman. *Rev HCPA* 2009; 29(3): 261-8.
30. Bland JM e Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1(8476):307-10.
31. Quinton PM. Cystic Fibrosis: lessons from the sweat gland. *Physiology (Bethesda)* 2007; 22: 212-25.
32. Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of Cystic Fibrosis. *Arch Dis Child* 2000; 82 (5): 420-4.
33. Reis FJC e Santos, 2010. *Anais do III Congresso Brasileiro de Fibrose Cística*. Belo Horizonte, Minas Gerais. Set/2010.
34. Eng W, LeGrys VA, Scheter MG, Langhon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatric Pulmonol* 2005; 40(1): 64-7.
35. Van der Merwe DE, Ubbink JB, Delpont R, Becker P, Dhath GS, Vermaak WJH. Biological variation in sweat sodium chloride conductivity. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 39-43.
36. Losty HC, Wheatley H, Doull L. The evaluation of a novel conductometer device for the diagnosis of Cystic Fibrosis. *Ann Clin Biochem* 2006; 43: 375-81.
37. Barben J, Ammann RA, Agnes Metlagel A, Schoeni MH, Swiss Paediatric Respiratory Research Group. Conductivity determined by a new sweat analyzer

compared with chloride concentrations for the diagnosis of Cystic Fibrosis.  
J Pediatr 2005; 146 (2); 183-8.

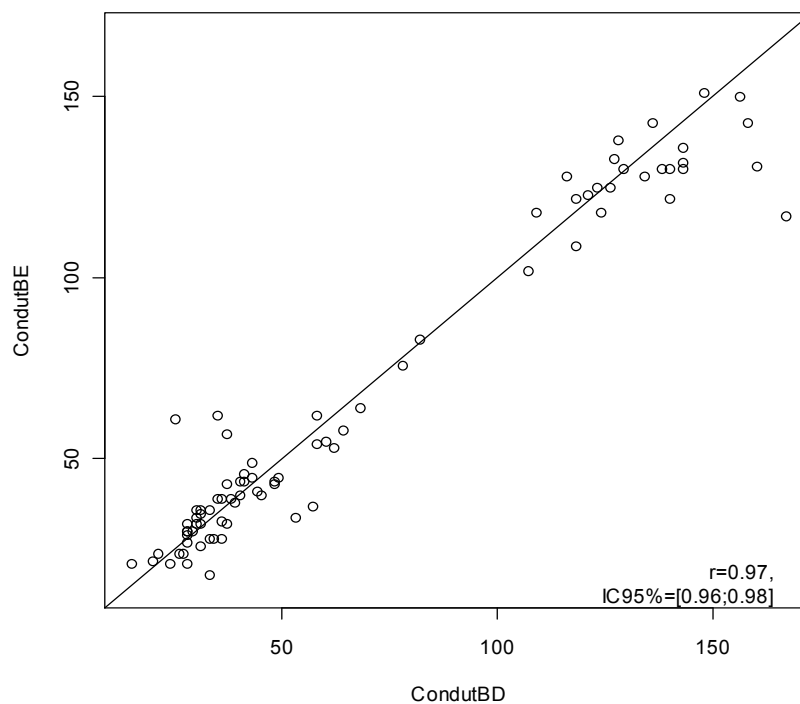
## 3.9 Tabela e Figuras

Tabela 3.1: Características demográficas, valores do teste do suor pela condutividade e dosagem do cloreto

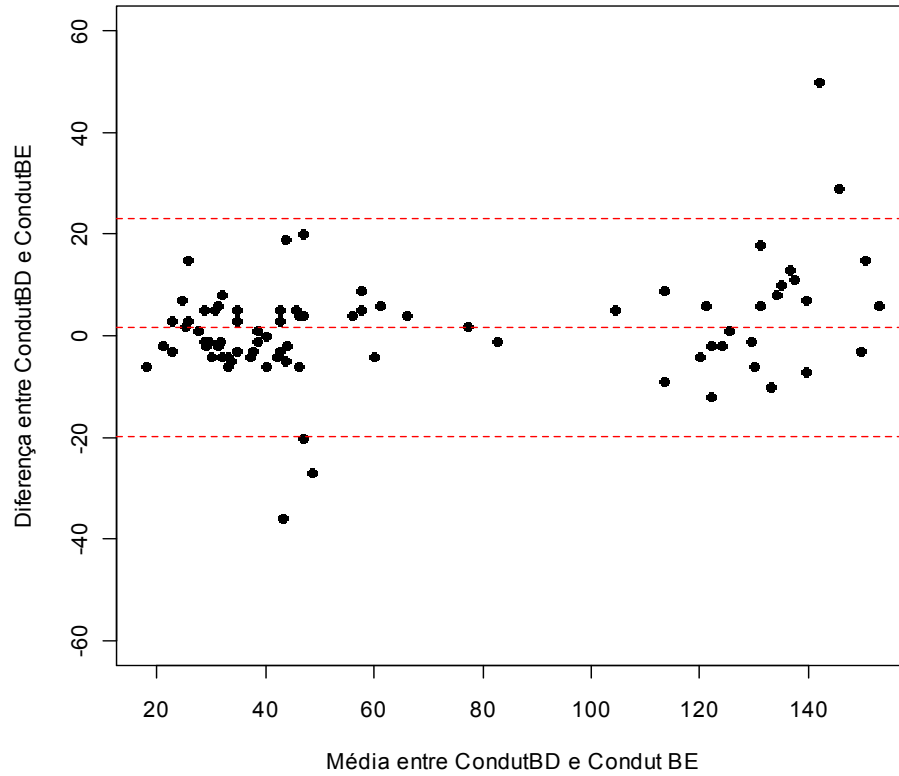
				Suspeitos (87)		FC (42)	p valor	
		%(n)	med(dp)	med(amp)	%(n)	med(dp)	med(amp)	
sexo	feminino	55(71)			61,9(26)			
	masculino	48(58)	51,7(45)		38,1(16)			
ccr	branca	60,5(78)			52,4(22)			
	metiço-mulato	31,8(41)	28,7(25)		38,1(16)			
idade	negro	7,8(10)	6,9(6)		9,5(4)			
	meses			51,5(49,7)		110,5(54,5)	117,5 (13-229)	
local de residência	<6	4,7(6)	6,9(6)	33 (1-211)	0			
	6-11	10,1(13)	14,9(13)		0			
	12-23	12,4(16)	16,1(14)		4,8(2)			
	24-59	26,4(34)	29,9(26)		19(8)			
	60-119	23,3(30)	20,7(18)		28,6(12)			
	>120	23,3(30)	11,5(10)		47,6(20)			
	Município do RJ	48,5(60)	47,1(41)		45,2(19)			
	Metropolitana	34,1(44)	32,2(28)		38,1(16)			
	Médio Paraiíba	4,7(6)	5,7(5)		2,4(1)			
	Lagos	4,7(6)	6,9(6)		0			
T SCo	Norte Fluminense	3,8(5)	4,6(4)		2,4(1)			
	Serrana	3,1(4)	1,2(1)		7,1(3)			
	Sul-Fluminense	2,3(3)	2,3(2)		2,4(1)			
	outro estado	0,8(1)	0		2,4(1)			
	volume BD (µl)	67,4(87)	29,5(17,3)	25,7(6,9-90,1)	32,6(42)	33,4(20,8)	29,9(10,9-99,7)	0,26
condutividade BD (mmol/L)	n=129		42,3(20,4)	37 (15-131)		128(23,2)	128 (80-181)	0,0000
	idade (meses)							
condutividade BD (mmol/L)	<6	6,9(6)	39,7(7,4)	39,5(30-48)	0			
	6-11	14,9(13)	33,7(4,4)	33(27-41)	0			
	12-23	16,1(14)	35,8(11,6)	36,5(15-59)	4,8(2)	132(22,6)	132(116-148)	
	24-59	29,9(26)	39,6(19,6)	34,5(22-119)	19(8)	133,5(15,2)	127,5(121-167)	
	60-119	20,7(18)	55,2(26,4)	56,5(19-131)	28,6(12)	133,7(25,5)	135(80-181)	
>120	11,5(10)	47,7(28,1)	40(20-114)	47,6(20)	122(24,5)	126,5(62-158)		
volume BE (µl)	62,8(129)	37,3(24,3)	28,9(7,4-106,2)	32,1(26)	39,2(22,5)	33,8(11,3-102,9)	0,74	
condutividade BE (mmol/L)	n=81		38,6(12,9)	36(18-76)		126,8(14,4)	129(62-151)	0,0000
	T SCl							
cloreto (mmol/L)		67,4(87)	13,6(8,6)	11,1(5,2-56,1)	32,6(42)	84,7(27,6)	85,2(38,6-159,9)	0,0000



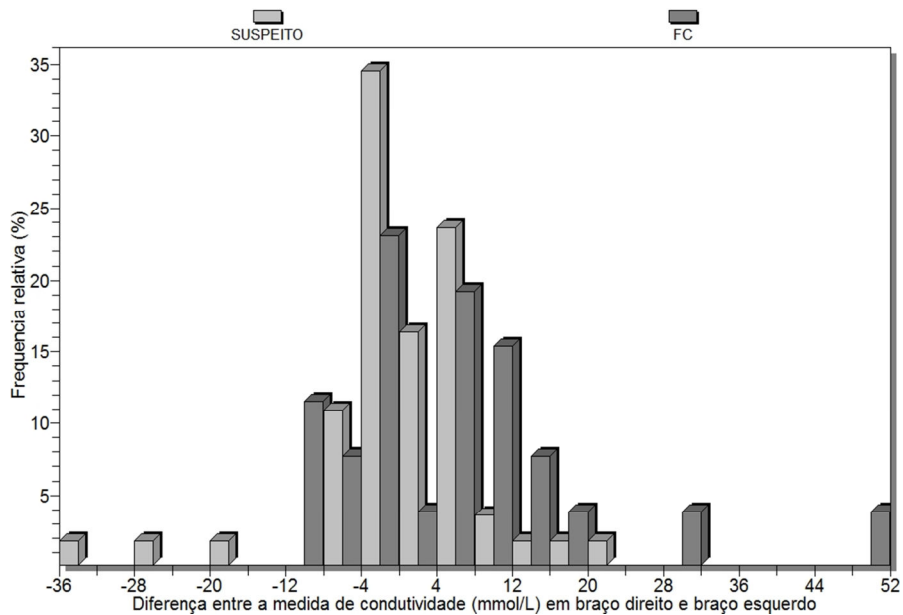
**Figura 3.1** - Histograma da medida de condutividade (mmol/L) do teste de suor em braço direito por categoria diagnóstica- fibrocístico e suspeito.



**Figura 3.2** - Gráfico de regressão linear dos valores de condutividade (mmol/L) de braços direito e esquerdo.

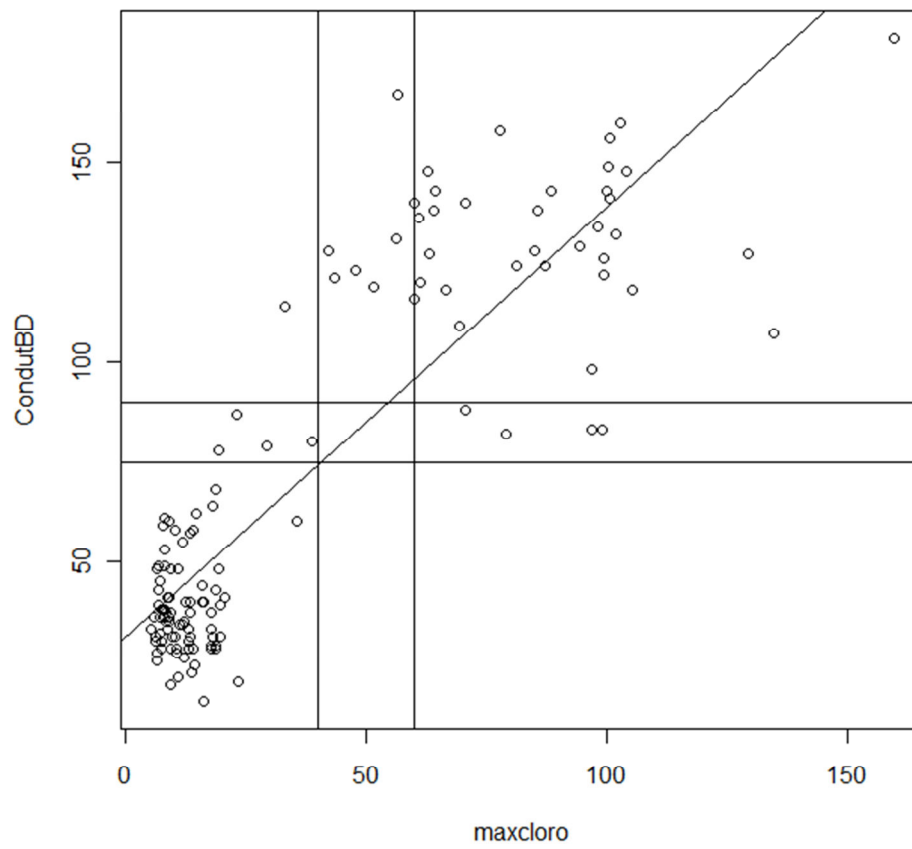


**Figura 3.3** - Gráfico da diferença entre as médias de condutividade de braço direito e esquerdo



**Figura 3.4** - Histograma da diferença entre a medida da condutividade (mmol/L) em braços direito e esquerdo por categoria diagnóstica- fibrocístico e suspeito.





**Figura 3.5** - Gráfico de regressão linear dos valores de condutividade (mmol/L) e valores de cloreto (mmol/L) pelo teste do suor padrão-ouro

#### Capítulo 4 – Considerações Finais

A demanda do TSCI foi superior à capacidade de realizar o TSCo em todos os pacientes referidos ao CRFC-IFF, uma vez que a pesquisa envolveu uma avaliação clínica do paciente prévia ao TSCo, feita pelo mesmo examinador. Outro fator limitante à realização do TSCo foi a quantidade de amostras de suor com volume entre 6-15 $\mu$ l, já que alguns autores recomendam que, para a análise da condutividade, seja necessário um volume mínimo de 15 $\mu$ l.

Seria interessante dar continuidade ao presente estudo, aumentando o número de TSCo, para melhor controle das possíveis fontes de variabilidade.

Poderíamos realizar estudos complementares comparando resultados da condutividade com a dosagem do Cl<sup>-</sup> pelo cloridrômetro digital, o qual está sendo implementado, como rotina, no IFF. Além disso, caberia dar continuidade ao presente estudo, realizando uma segunda etapa de exames, incluindo todos os pacientes com FC que estão em seguimento no IFF.

Com a tendência à implantação da triagem neonatal para FC, pela rede SUS, no Estado do Rio de Janeiro, haverá um aumento do número de pacientes referidos para a realização de TSCI no CRFC-IFF, necessitando capacitar mais profissionais para adequado atendimento da demanda. Diante de tal fato, poderia ser discutida a implantação do TSCo como rotina, após triagem neonatal positiva, como uma primeira etapa para o diagnóstico da FC.

## Referências Bibliográficas

Aguiar MJB. Experiências dos programas de triagem neonatal. In: Anais do XIV Congresso Brasileiro de Genética Clínica. Ribeirão Preto. Sociedade Brasileira de Genética Clínica; 2002. p. 16.

Alvarez AE, Ribeiro AF, Hessel G, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Fibrose Cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. *JPediatr (Rio J)* 2004; 80(5): 371-9.

Barben J, Ammann RA, Agnes Metlagel A, Schoeni MH, Swiss Paediatric Respiratory Research Group. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of Cystic Fibrosis. *J Pediatr* 2005; 146 (2): 183-8.

Beauchamp M, Lands LC. Sweat-testing: A review of current technical requirements. *Pediatric Pulmonol* 2005; 39: 507-11.

Bijman J, Quinton PM. Influence of abnormal Cl<sup>-</sup> impermeability on sweating in cystic fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol* 247: C3–C9, 1984.

Bland JM e Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1(8476):307-10.

Cabello GM, Moreira AF, Horovitz D, et al. Cystic Fibrosis: low frequency of the DF508 mutation in 2 population samples from Rio de Janeiro, Brazil. *Human Biol.* 1999; 71:189-96.

Carter EP, Barret AD, Heeley AF, Kuzemko JA. Improved sweat test method for the diagnosis of Cystic Fibrosis. *Archives of Disease in Childhood* 1984; 59: 919-922.

Castellani C. Evidence for newborn screening for Cystic Fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2003; 4: 278-84.

Castellani C., Cuppens H., Macek Jr M., Cassiman J, Kerem E, Durie P et al. Consensus on the use and interpretation of Cystic Fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 2008; 7 (3): 179-96.

CDC 2007. Epi Info, version 3.5.3. <http://www.cdc.gov/epiinfo/> acesso em 24/02/2011.

Clinical Laboratory Standards Institute formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat Testing: Sample Collection and Quantitative Analysis: Approved Guideline. NCCLS Document C34-A2. Wayne, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000.

CysticFibrosisMutationDatabase. [www.ccb.sickkids.ca/.../cystic-fibrosis-mutation-database.html](http://www.ccb.sickkids.ca/.../cystic-fibrosis-mutation-database.html) acesso em 27/02/2011.

Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for Cystic Fibrosis in the newborn. *Lancet* 1979; 1: 472-4.

Davies J, Alton E, Griesenbach U. Cystic Fibrosis modifier genes. *J R Soc Med* 2005; 98 (S45): S47-S54.

Davis PB. Cystic Fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(5):475-82.

De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M, Diagnostic Working Group. Cystic Fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61 (7): 627-35.

Di Sant'Agnese PA e Powell GF. The eccrine sweat defect in Cystic Fibrosis of the pancreas (mucoviscidosis); *Ann. Ny acad. Sci.* 1962; 93: 555-599.

Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in Cystic Fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953; 12 (5): 549-63.

Eng W, LeGrys VA, Scheter MG, Langhon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatric Pulmonol* 2005; 40(1):64-7.

Farrell PM, Kosciak RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 Cystic Fibrosis. *Pediatrics* 1996; 97 (4): 524-8.

Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, Legrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW, Cystic Fibrosis Foundation. Guidelines for diagnosis of Cystic Fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr* 2008; 153 (S2): S4-S14.

Fletcher RH, Fletcher SW. Diagnóstico. In: Fletcher RH e Fletcher SW. *Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais*. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. P. 56-81.

Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in Cystic Fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23 (3): 545-9.

Hammond KB, Turcios NL, Gison LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of Cystic Fibrosis. *J Pediatr* 1994; 124 (2): 255-60.

Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of Cystic Fibrosis. *Arch Dis Child* 2000; 82 (5): 420-4.

Hirakata VN e Comey SA. Análise de concordância entre métodos de Bland-Altman. *Rev HCPA* 2009; 29 (3): 261-8.

Honorio LFO, Ludwig Neto N, Barbosa E, Perin N, Gastaldi LA, Ferreira JE et al. Avaliação da triagem neonatal para Fibrose Cística no Estado de Santa Catarina. *J Bras Pneumol* 2006; 32 (S1): S1-S16.

Horovitz DDG, Llerena Jr. JC, Mattos RA. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. *Cad Saúde Pública (Rio J)* 2005; 21 (4): 1055-64.

Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the Cystic Fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245 (4922): 1073-80.

Kerem E, Kerem B. Genotype–phenotype correlations in Cystic Fibrosis. *PediatrPulmonol* 1996; 22 (6): 387-95.

Kleyn M, Korzeniewski S, Grigorescu V, Young W, Homnick D, Goldstein-Filbrun A et al. Predictors of insufficient sweat production during confirmatory testing for Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2010 n/a. doi: 10.1002/ppul.21318 acesso em 27/09/2010.

Knowles MR, Stutts MJ, Spock A, Fischer N, Gatzky JT, Boucher RC. Abnormal ion permeation through Cystic Fibrosis respiratory epithelium. *Science* 1983; 221 (4615): 1067-70.

Knowles MR, Stutts MJ, Yankaskas JR, Gatzky JT, Boucher RC et al. Abnormal respiratory epithelial ion transport in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med.* 1986 Jun; 7 (2): 285-97.

LeGrys VA, Wood RE. Incidence and implications of false-negative sweat test reports in patients with Cystic Fibrosis. *PediatrPulmonol* 1988; 4 (3): 169-72.

LeGrys VA. Sweat analysis proficiency testing for Cystic Fibrosis. *PediatrPulmonol* 2000; 30 (6): 476-80.

LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of Cystic Fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 1996; 129 (6): 892-7.

LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel Jr. P. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr* 2007; 151:85-9.

Lei nº 8080 de 19 de setembro de 1990.

[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/L8080.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L8080.htm) acesso em 06/03/2009.

Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya ME. Sweat conductivity and chloride titration for Cystic Fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros* 2003; 2(1): 1-7.

Licht TS, Stern M, Shwachman H. Measurement of the electrical conductivity of sweat; its application to the study of Cystic Fibrosis of the pancreas. *ClinChem* 1957; 3 (1): 37-48.

Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with Cystic Fibrosis. *ClinMicrobiol Rev* 2002; 15 (2): 194-222.

Losty HC, Wheatley H, Doull L. The evaluation of a novel conductometer device for the diagnosis of Cystic Fibrosis. *Ann ClinBiochem* 2006; 43:375-81.

Macroduct Sweat Collection System. Model 3700 SYS - Instruction/service manual. Wescor. INC. [www.wescor.com/biomedical/cysticfibrosis/macroduct.html](http://www.wescor.com/biomedical/cysticfibrosis/macroduct.html) acesso em 24/02/2011.

Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reability of sweat-testing by the macroduct collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr* 2000; 89 (8): 933-7.

Mattar ACV. Teste do suor para diagnóstico de Fibrose Cística: comparação do teste clássico com o teste simplificado [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2010.142p.

Mattar ACV, Gomes EN, Adde FV, Leone C, Rodrigues JC. Comparação entre o método clássico de Gibson e Cooke e o teste da condutividade no suor em pacientes com e sem Fibrose Cística. *J Pediatr (Rio J)* 2010;86(2):109-14.

Ministerio da Saúde. Portaria GM/MS nº 822 em 06 de junho de 2001. Cria o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Anexo III.

Ministério da Saúde. Portaria nº 338 de 29 de junho de 2005. Sobre Fibrose Cística. <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005> acesso em 27/02/2011

Ministério da Saúde. Portaria SAS nº189. Institui no âmbito da Secretaria de Assistência à Saúde o grupo técnico de assessoramento em triagem neonatal. Brasília 2001; 06 de junho.

Mishra A, Greaves R, Massie J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of Cystic Fibrosis in genomic era. *Clin Biochem Rev* 2005; 26 (4): 135-53.

Moore KL, Persaud TVN. *Embriologia clínica*. Editora Guanabara Koogan; 1994. p.407-8.

Quinton PM. Cystic Fibrosis: lessons from the sweat gland. *Physiology (Bethesda)* 2007; 22: 212-25.

Quinton PM. Suggestion of an abnormal anion exchange mechanism in sweat glands of Cystic Fibrosis patients. *Pediatr Res* 1982; 16 (7): 533-7.

R 2.8.1. The R Project for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/> acesso em 24/02/2011.

Raskin S, Pereira-Ferrari LP, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, Cardieri J, Ludwig N, Valentin L, Rosário Filho NA, Camargo Neto E, Lewis E, Giugliani R, Diniz EM, Culp L, Phillip JA, Chakraborty R. Incidence of Cystic Fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of F508del mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros* 2008; 7 (1): 15-22.

Ratjen F, Doring G. Cystic Fibrosis. *Lancet* 2003; 361 (9358): 681-9.

Reis FJC, Oliveira MCL, Penna FJ, Oliveira MGR, Monteiro APAF. Quadro clínico e nutricional de pacientes com Fibrose Cística: 20 anos de seguimento no HC-UFMG. *Rev Ass Med Brasil* 2000; 46 (4): 325-30.

Reis FJC, Santos AEAB. Teste do suor: 21 anos de experiência. III Congresso Brasileiro de Fibrose Cística 01-04/09/2010 [www.jornaldepneumologia.com.br](http://www.jornaldepneumologia.com.br) acesso em 10/12/2010.

Reis F, Melo SO, Vergara AA. Programa de triagem neonatal para Fibrose Cística de Minas Gerais: aspectos clínicos e laboratoriais. *J Bras Pneumol* 2006; 32 (SI): S1-S16.

Ribeiro JD, Ribeiro MA, Ribeiro AF. Controvérsias na Fibrose Cística – do pediatra ao especialista. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78 (2): S171-86.

Riedi CA, Zavadniak AF, Silva DC, Franco A, Rosário Filho NA. Comparação da condutividade com a determinação de sódio na mesma amostra de suor. *J Pediatr (Rio J)* 2000; 76 (6): 443-6.

Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL et al. Identification of the Cystic Fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245 (4922): 1066-73.

Rodrigues R. Estudo piloto para a implantação da triagem da Fibrose Cística no estado de São Paulo [tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2008.

Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M et al. Identification of the Cystic Fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245 (4922): 1059-65.

Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of Cystic Fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998; 132 (4): 589-95.

Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic Fibrosis. *N Engl J Med* 2005; 352 (19): 1992-2001.

Santos GPC, Domingos MT, Wittig EO, Riedi CA, Rosário NA. Programa de triagem neonatal para fibrose cística no estado do Paraná: avaliação após 30 meses de sua implantação. *J Pediatr (Rio J)* 2005; 81 (3): 240-4.

Schulz I, Ullrich KL, Fromter E, Emrich HM, Frick A, Hegel U, Holzgrove H. Micropuncture experiments on human sweat glands. In: *Research on Pathogenesis of Cystic Fibrosis*, edited by di Sant'Agnesse PA. Bethesda, MD: National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases, 1964; 136-146.

Schwan PJ. Expressão da fibrose cística ao diagnóstico em um centro de referência do Rio de Janeiro [dissertação] Rio de Janeiro: Pós-Graduação em Saúde da Mulher, Criança e Adolescentes, Instituto Fernandes Figueira, Fiocruz, 2010.

Slegers JF. Patho-physiological studies of the sweat gland. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere*, 1966; 290(3): 231-6.

Sokol RJ, Durie PR. Recommendations for management of liver and biliary tract disease in Cystic Fibrosis. Cystic Fibrosis Foundation Hepatobiliary Disease Consensus Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28 (SI) 1: S1-13.

Steinraths M, Vallance HD, Davidson AGF. Delays in diagnosing Cystic Fibrosis. *Can Fam Physician* 2008; 54:877-83.

Streiner DL, Norman GR. Health measurement scales: a practical guide to their development and use. Oxford: Oxford University Press; 1995.

Sweat-Chek 3120 - Sweat Conductivity Analyzer - Instruction/service manual. Wescor. INC. [www.wescor.com/biomedical/cysticfibrosis/sweat-chek.html](http://www.wescor.com/biomedical/cysticfibrosis/sweat-chek.html) acesso em 24/02/2011.

Sweat Test Guidelines, 2003 [www.acb.org.uk/docs/sweat.pdf](http://www.acb.org.uk/docs/sweat.pdf) acesso em 27/02/2011.

Tsui LC, Rommens J, Kerem B, Rozmahel R, Zielenski J, Kennedy D et al. Molecular genetics of Cystic Fibrosis. *Adv Exp Med Biol* 1991; 290: 9-17.

Van der Merwe DE, Ubbink JB, Delpont R, Becker P, Dhatt GS, Vermaak WJH. Biological variation in sweat sodium chloride conductivity. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 39-43.

Webster HL. A clinical appraisal of Cystic Fibrosis sweat-testing guidelines. *Am Clin Lab* 2001; 20 (3): 39-42. (a)

Webster HL. Sweat chloride and conductivity. *Arch Dis Child* 2001; 84 (5): 450-1. (b)

Webster HL, Barlow WK. New approach to cystic fibrosis diagnosis by use of an improved sweat-induction/collection system and osmometry. *Clin Chem* 1981; 27 (3): 385-387.

Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso F and Cutting GR. Cystic Fibrosis. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly W and Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw – Hill 2001; p.5122-5188.

Welsh MJ, Tsui LC, Boat TF, Beaudet AL. Cystic Fibrosis. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 3799-3876.

WHO, 2009. [www.who.in/ent/](http://www.who.in/ent/) acesso em 06/03/2009.

Wilfond BJ, Taussig LM. Cystic Fibrosis: general overview. In: Taussig LM, Landau LI. *Pediatric Respiratory Medicine*. St Louis, Mo, Mosby; 1999. p. 982-1009.

Wilmott RW, Fiedler MA. Recent advances in the treatment of Cystic Fibrosis. *Pediatr Clin North Am* 1994; 41 (3): 431-51.

Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic Fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest* 2004; 125 (S1): S1-S39.

Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL, et al. Identification of the Cystic Fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245:1066–1073.



## Anexo 1 - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

**Andamento do projeto - CAAE - 0085.0.008.000-09**

**Título do Projeto de Pesquisa**  
VALIDAÇÃO DO TESTE DO SUOR PELO MÉTODO DA CONDUTIVIDADE NA TRIAGEM DA FIBROSE CÍSTICA PELA REDE SUS

Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	04/12/2009 13:28:25	26/10/2010 09:50:19		

Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	02/12/2009 18:49:12	Folha de Rosto	FR309447	Pesquisador
3 - Protocolo Pendente no CEP	25/01/2010 14:03:23	Folha de Rosto	0085/09	CEP
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	04/12/2009 13:28:25	Folha de Rosto	0085.0.008.000-09	CEP
4 - Protocolo Aprovado no CEP	26/10/2010 09:50:19	Folha de Rosto	0085/10	CEP

[Voltar](#)

**APROVADO**  
Válido Até 31/01/2011  
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos  
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ  
Telefone: (21) 2512-1730

*Medison*  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos  
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ

**Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

**PROJETO DE PESQUISA:** REPRODUTIBILIDADE E VALIDADE DO TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE NO DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA EM CENTRO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

**PESQUISADORA RESPONSÁVEL:** Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha

**INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:** Instituto Fernandes Figueira - FIOCRUZ

**ENDEREÇO:**, Av. Rui Barbosa, 716 – 2º andar – ambulatório de Pneumologia – Flamengo. Rio de Janeiro - RJ

**TELEFONE:** (21) 2554-1770 / 9994-4614

**ORIENTADORA:** Dra. Maria Virginia Marques Peixoto

**COORDINADORA:** Ana Claudia de Almeida

Prezado responsável,

Eu, Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha, venho pedir que o(a) Sr(a). permita a participação de seu/sua filho(a), como voluntário(a), na pesquisa “REPRODUTIBILIDADE E VALIDADE DO TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE NO DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA EM CENTRO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO”, que faz parte da minha dissertação de mestrado, a ser defendida no Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e da Mulher, do Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ, sob a orientação da Dra Maria Virginia Marques Peixoto e co-orientação de Ana Claudia de Almeida.

Esta pesquisa inclui a coleta não-invasiva de material clínico (suor) e tem, como objetivo, avaliar um teste para a Fibrose Cística, para ser utilizado na Fase III do Programa de Triagem Neonatal do Ministério da Saúde.

No caso do(a) Sr(a). concordar que seu filho(a) participe, favor assinar no final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, o Sr(a). poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo à sua relação com a pesquisadora ou com a instituição.

Será entregue ao Sr(a). uma cópia deste termo. Em qualquer momento, o voluntário ou responsável legal do menor voluntário pode tirar dúvidas do projeto e de sua participação com a pesquisadora.

O teste do suor pela técnica de Gibson e Cooke é um exame não-invasivo, sendo constituído por três etapas. A primeira etapa consiste na estimulação da produção de suor, realizada por meio de dois eletrodos posicionados na superfície do antebraço do voluntário, protegidos por gaze umidificada com solução de pilocarpina. Na segunda etapa, é feita a coleta do suor através da gaze, que é pesada em balança adequada. O resultado é obtido posteriormente, em análise laboratorial.

O teste da condutividade assemelha-se ao primeiro, porém, na fase de estimulação do suor, é usado um gel em formato de disco, que é acoplado em cada eletrodo, conhecido pelo nome de pilogel. Na segunda etapa, o suor é coletado através de um espiral de plástico, que recebe o nome de macroduto, que é colocado no local da área previamente estimulada. Na terceira etapa, o suor coletado é levado a um aparelho que faz a leitura imediata do resultado do exame. A duração do exame é de, aproximadamente, 40 minutos.

Por precaução, este teste não deve ser realizado em crianças que apresentem sintomas de doença aguda, tais como febre, vômito, falta de ar, desidratação. O risco que o estudo traz aos participantes é o de haver queimadura leve na área estimulada, relatada em 1%

dos casos. Também é relatado, na literatura, desconforto, como sensação de formigamento na área estimulada.

Os voluntários da pesquisa não arcarão com nenhum gasto decorrente da sua participação. O exame é gratuito, e os participantes da pesquisa não receberão qualquer espécie de reembolso ou gratificação devido à participação na pesquisa.

Será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas com os resultados dos exames, que ficarão sob guarda da pesquisadora, sendo apenas divulgados os dados diretamente relacionados aos objetivos da pesquisa. As identidades do(a) Sr(a). e de seu/sua filho(a) serão mantidas em sigilo.

#### CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DO VOLUNTÁRIO

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, declaro que li e compreendi todas as informações contidas neste documento, relativas à realização do teste do suor por Gibson e Cooke e pela condutividade, e fui devidamente informado(a) pela pesquisadora (a médica Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha), respondendo a todas as minhas dúvidas, sobre os procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo, confidencialidade da pesquisa, concordando, ainda, em participar da pesquisa. Além disso, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei total liberdade em retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que meu/minha filho(a) tenha adquirido em seu atendimento neste serviço. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento.

LOCAL E DATA:

Rio de Janeiro, \_\_\_\_\_

RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR VOLUNTÁRIO:

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
(assinatura)

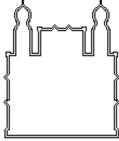
PESQUISADORA RESPONSÁVEL:

Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha

Instituto Fernandes Figueira – Setor: Pneumologia Pediátrica

\_\_\_\_\_  
(assinatura)

## Apêndice 2 – Procedimentos Operacionais

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: PREPARO DA ESTRUTURA FÍSICA</b></p>		

### Introdução

Para a realização do TSCo, a estrutura física deve ser ajustada, visando a facilitar a logística de todo o processo, desde a acolhida dos pacientes e voluntários, preparo do material para o exame, realização da técnica, transferência de dados para o computador, até a posterior assepsia de todo material e local.

### 1 OBJETIVO

Descrever a estrutura física ideal para a realização do exame do teste do suor pela condutividade.

### 2 CAMPO DE APLICAÇÃO

Setor de Pneumologia Pediátrica do Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ. SALA DO TESTE DO SUOR, 2º andar- Prédio do Hospital do Instituto Fernandes Figueira.

### 3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

- Área de acolhimento: local para receber a pessoa na qual será realizado o teste do suor pela condutividade; fornecer explicações adicionais e receber o TCLE assinado.
- Área laboratorial: local onde todo o material de consumo é estocado e o material permanente é guardado.
- Área do exame: local onde o procedimento propriamente dito é realizado.
- Área de escritório: local onde os dados serão obtidos e analisados.
- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade

### 4 RESPONSABILIDADES

Setor de Manutenção e Engenharia no hospital  
Setor de Pneumologia Pediátrica

## **5 DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

### **5.1 Área de acolhimento**

- Deverá constar de mesa e cadeiras.
- Ter iluminação e ventilação adequadas.
- Promover privacidade para possíveis questionamentos e dúvidas.

### **5.2 Área laboratorial**

- Deverá constar de geladeira, armários com prateleiras, bancada, pia, lixeira com pedal, dispositivo para papel toalha, banco ou cadeira para o examinador, prateleira para suporte do material, fontes 110V e 220V próximas à bancada e mesa do exame.
- Não deve haver qualquer tipo de infiltração ou umidade que possa vir a comprometer a funcionalidade dos equipamentos e durabilidade dos materiais de consumo presentes nesse ambiente.
- Deverá dispor de iluminação e ventilação adequadas.

### **5.3 Área do exame**

- Deverá constar de 3 cadeiras (para o examinador, para o paciente e para o acompanhante), mesa e prateleira de apoio, lixeira com pedal, dispositivo para papel toalha, no mínimo 2 tomadas 110 nas proximidades da mesa de apoio. Idealmente, oferecer algum tipo de entretenimento: televisão, DVD, rádio – principalmente para os pacientes de menor idade.
- Deverá dispor de iluminação e ventilação adequadas.

### **5.4 Área de escritório**

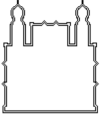
- Deverá constar de mesa, cadeiras, armários, arquivo, computador, impressora, telefone, acesso à internet, além de iluminação e ventilação adequadas.

## **6 REFERÊNCIAS**

ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”. Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

## **7 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO**

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade - IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: FORMAÇÃO DOS GRUPOS</b></p>		

## **Introdução**

Para a reprodutibilidade e a validade do teste do suor pela condutividade, será necessária a formação de dois grupos distintos:

**Grupo 1:** formado por pacientes previamente diagnosticados com Fibrose Cística e que já são acompanhados no ambulatório de FC;

**Grupo 2:** formado por pacientes com suspeita de FC e que são encaminhados para a realização do TSCL.

## **1 OBJETIVO**

Estabelecer os requisitos para a formação de cada grupo da pesquisa.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Setor de Pneumologia Pediátrica do IFF - FIOCRUZ. Centro de Referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TSCL: Teste do Suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade
- TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido
  - Grupo 1: pacientes portadores de FC vinculados ao ambulatório de FC do IFF
  - Grupo 2: pacientes com suspeita de FC

## **4 DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

### **4.1 Captação dos pacientes elegíveis para o Grupo 1**

- a- Selecionar pacientes, menores de 18 anos, previamente diagnosticados com FC, já em seguimento no ambulatório de FC do IFF.
- b- Agendar uma entrevista com os responsáveis para informá-los sobre o teste do suor pela condutividade – indicação, detalhes da técnica, riscos, desconfortos e contraindicações; explicar sobre o projeto de reprodutibilidade e validade do

- exame, sobre sua importância na triagem da Fibrose Cística, e propor a participação do menor voluntário na pesquisa.
- c- Anotar, no prontuário, se o paciente irá participar ou não da pesquisa.
  - d- Se o voluntário for participar da pesquisa, incluir o nome do paciente na lista de eleitos e solicitar um telefone para contato, para que seja agendada a data da realização do exame.
  - f- Existe possibilidade de nova entrevista, caso o responsável ou o médico julguem necessários maiores esclarecimentos.
  - g- Na ocasião do início da pesquisa, o TCLE deverá ter sido lido pelos responsáveis e devolvido, assinado, ao médico responsável.

#### **4.2 Captação dos voluntários elegíveis para o Grupo 2**

- a- Selecionar pacientes com suspeita de FC encaminhados para realização de TSCI
- b- Agendar uma entrevista com os responsáveis para informá-los sobre o teste do suor pela condutividade – indicação, detalhes da técnica, riscos, desconfortos e contra-indicações; explicar sobre o projeto de reprodutibilidade e validade do exame e sobre sua importância na triagem da Fibrose Cística, e propor a participação do menor voluntário na pesquisa.
- c- Anotar no prontuário se o paciente irá participar ou não da pesquisa.
- d- Se o voluntário for participar da pesquisa, incluir o nome do paciente na lista de eleitos para o Grupo 2 e solicitar um telefone para contato, para que seja agendada a data da realização do exame.
- e- Existe possibilidade de nova entrevista, caso o responsável ou o médico julguem necessários maiores esclarecimentos.
- f- Na ocasião da realização do TSCo, o TCLE deverá ter sido lido pelos responsáveis e devolvido, assinado, ao médico responsável.

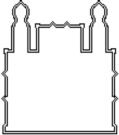
#### **5 REFERÊNCIAS**

ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”. Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by electrophoresis. *Pediatrics* 1959; 23:545-9.

#### **6 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO**

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: PREENCHIMENTO DO TCLE</b></p>		

## **Introdução**

O TSCo já é realizado na Europa, nos Estados Unidos e na Austrália, porém, no Brasil, somente alguns Centros de Referência para FC utilizam esse equipamento para triagem. Nas fases de reprodutibilidade e validade do TSCo no IFF, a participação de voluntários é de fundamental importância. O preenchimento do TCLE deve ser realizado de forma responsável, oferecendo informações sobre a técnica, os riscos, desconfortos e benefícios para o voluntário, custo e confidencialidade da pesquisa e a constante possibilidade de desistência da participação do voluntário, em qualquer momento, sem haver nenhum comprometimento à assistência do paciente relacionado.

## **1 OBJETIVO**

Estabelecer os requisitos para o preenchimento correto e completo do TCLE.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Setor de Pneumologia Pediátrica do Instituto Fernandes Figueira - FIOCRUZ. Centro de referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade

## **4 RESPONSABILIDADES**

A médica pesquisadora Dra. Cecília Athayde Moreira de Aboim Aranha será responsável pelas informações aos voluntários e pelas orientações relacionadas ao preenchimento do TCLE.



## **5 DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

### **5.1 Agendamento de reunião**

- a- Cada voluntário para a realização do TSCo deverá fornecer um telefone para contato.
- b- O voluntário e seu responsável serão convidados para uma reunião com a médica pesquisadora em horário previamente agendado.
- c- Nessa reunião, as informações sobre a técnica do exame, riscos, desconfortos, benefícios, custo, confidencialidade serão expostos e todas as dúvidas esclarecidas.

### **5.2 Leitura e esclarecimento de dúvidas**

- a- A médica responsável deverá ler o termo de consentimento junto com o voluntário (ou responsável legal).
- b- A médica responsável deverá responder sobre algum questionamento ou dúvida referente à própria técnica ou a qualquer parte do projeto de pesquisa.

### **5.3 Preenchimento e assinatura do TCLE**

- a- O voluntário maior de 18 anos, ou o responsável legal de menor portador de FC, deverá preencher e assinar o TCLE, na presença da equipe do projeto.
- b- O TCLE deverá ter duas cópias – uma para ser entregue ao voluntário e outra para ser anexada ao projeto.

### **5.4 Armazenamento do TCLE**

- a- Uma via deverá ser entregue ao voluntário/seu responsável legal
- b- A segunda via do TCLE deverá ser guardada em pasta, apropriadamente identificada, no Setor de Pneumologia Pediátrica do IFF.

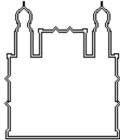
## **6 REFERÊNCIAS**

ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”.Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by electrophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545-9.

## **7 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO**

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: UTILIZAÇÃO DO WEBSTER SWEAT INDUCER®</b></p>		

## **Introdução**

O TSCo requer a indução da produção de suor. Esse primeiro procedimento é realizado através de estimulação por iontoforese por pilocarpina, utilizando-se do equipamento chamado WSI.

## **1 OBJETIVO**

Descrever a utilização do equipamento WSI para indução da produção do suor, para posterior coleta e análise em relação à condutividade da amostra do suor.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ. Centro de referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade
- TS: Teste do Suor
- WSI: Webster Sweat Inducer

## **4 RESPONSABILIDADES**

Setor de Gerência de Risco (Qualidade IFF)  
Setor de Manutenção e Engenharia do hospital  
Setor de Pneumologia Pediátrica

## **5 FLUXOGRAMA**

A estimulação do suor por iontoforese por pilocarpina requer a utilização do WSI para produção de amostras de suor, que serão coletadas pelo sistema Macroduct® e, posteriormente, analisadas pelo sistema Sweat-Chek Analyser®.

## 6 DESCRIÇÃO DO PROCESSO

### 6.1 Materiais/Componentes

Água deionizada, gaze, 2 discos de pilogel (nitrato de pilocarpina a 0,5% em forma de disco de gel sólido), 2 faixas com velcro, nas cores vermelha e preta, 2 eletrodos com cabo, WSI, 2 baterias alcalinas de 9v.

### 6.2 Utilização do WSI

- Limpar o antebraço com gaze embebida em água deionizada, deixando ligeiramente úmida a área de pele que será estimulada.
- Acoplar as baterias (2 baterias alcalinas de 9v) e o cabo dos eletrodos no indutor.
- Colocar os discos de pilogel nos eletrodos. Os discos não possuem um lado específico para posicionamento; já estão prontos para serem usados, não sendo necessária a utilização de gaze ou de soluções/reagentes.
- Posicionar os eletrodos, preferencialmente, na superfície anterior do antebraço do paciente e fixá-los com as faixas de velcro de cores correspondentes aos eletrodos.
- O eletrodo positivo (vermelho) deve ser colocado mais proximal, a cerca de 5cm da dobra do cotovelo e o eletrodo negativo (preto) deve ser mais distal, longe da área dos tendões.
- Uma vez fixados, os eletrodos não requerem atenção específica durante a iontoforese.
- Ligar o WSI no botão RUN, e, em seguida, um curto “beep” será ouvido. Em, aproximadamente, 20 segundos, uma luz se acenderá.
- A corrente da iontoforese é de 1,5 mA e tem duração (automática) de 5 minutos. Ao término da estimulação, um outro “beep” é ouvido e a luz do WSI se apagará, estando o aparelho desligado.
- Retirar os eletrodos e descartar os discos de pilogel.
- Limpar a pele com água deionizada.

## 7 REFERÊNCIAS

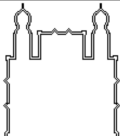
ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”. Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

Macroduct Sweat Collection System Model 3700 SYS – Instruction/service manual. Wescor. INC.

3120 Sweat-Chek - Sweat Conductivity Analyzer - Instruction/service manual. Wescor. INC.

## 8 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE COLETA MACRODUCT®</b></p>		

## **Introdução**

O TSCo requer a coleta do suor após a etapa de indução à sua produção. Esse procedimento é realizado através do Macroduct®, equipamento que possui um sistema em espiral de plástico em seu interior.

## **1 OBJETIVO**

Descrever a utilização do equipamento MSC para a coleta do suor para posterior análise em relação à condutividade da amostra do suor.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ. Centro de referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade
- TSCI: Teste do Suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos
- WSI: Webster Sweat Inducer
- MSC: Macroduct Sweat Collector
- SCA: SweatChekAnalyzer

## **4 RESPONSABILIDADES**

Setor de Gerência de Risco (Qualidade IFF)  
Setor de Manutenção e Engenharia do hospital  
Setor de Pneumologia Pediátrica

## **5 FLUXOGRAMA**

A estimulação do suor por iontoforese por pilocarpina requer a utilização do WSI para produção de amostras de suor que serão coletadas pelo sistema MSC e, posteriormente, analisadas pelo sistema Sweat-Chek.

## 6 DESCRIÇÃO DO PROCESSO

### 6.1 Utilização do MSC

- Colocar a superfície côncava do MSC (que contém um pequeno orifício) em contato com a área da pele a qual foi estimulada pelo eletrodo positivo.
- Acoplar a faixa de velcro de tamanho adequado ao MSC.
- Fixar firmemente o MSC no antebraço, ajustando corretamente a faixa de velcro.
- À medida que o suor é coletado através do espiral plástico do MSC, o suor vai mudando se de cor, ficando azul.
- Aguardar 30 minutos.
- Retirar o MSC do braço do paciente.
- Remover a tampa transparente protetora da superfície de coleta com ferramenta pontiaguda.
- Puxar o tubo em espiral da superfície coletora.
- Cortar com alicate (que acompanha o kit) a parte mais interna do espiral que está colada no suporte.
- Remover o espiral do suporte.
- Medir o comprimento do espiral que foi preenchido de suor (coloração azulada).
- Estender o espiral sobre uma régua metálica milimetrada, medindo do ponto zero ao ponto máximo.
- Calcular o volume de suor coletado uma vez que são conhecidas a área do círculo interno e o comprimento do espiral.
- De acordo com o manual o diâmetro do espiral mede 0,64mm, sendo o raio 0,32mm.
- Usar a fórmula:  $\text{volume} = \pi \cdot r^2 \cdot \text{comprimento}$
- Conectar o espiral com suor no SCA. .
- Descartar o suporte do MSC e guardar a faixa de fixação.

## 7 REFERÊNCIAS

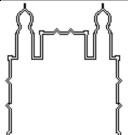
ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”. Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

Macroduct Sweat Collection System Model 3700 SYS – Instruction/service manual. Wescor.INC.

Sweat Conductivity Analyzer - Instruction/service manual. Wescor.INC.

## 8 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: UTILIZAÇÃO DO SWEAT CHEK ANALYZER®</b></p>		

## **Introdução**

O TSCo realiza a análise do suor através do equipamento SCA. Esse procedimento sucede à coleta do suor pelo Macroduct®.

## **1 OBJETIVO**

Descrever a utilização do equipamento SCA na análise da condutividade do suor, coletado após estimulação de sua produção.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ. Centro de Referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TSCo: Teste do Suor pela Condutividade
- TSCI: Teste do Suor pela dosagem quantitativa de eletrólitos
- WSI: Webster Sweat Inducer
- SCA: Sweat Chek Analyzer

## **4 RESPONSABILIDADES**

Setor de Gerência de Risco(Qualidade IFF)  
Setor de Manutenção e Engenharia do hospital  
Setor de Pneumologia Pediátrica

## **5 FLUXOGRAMA**

A estimulação do suor por iontoforese por pilocarpina requer a utilização do WSI para produção de amostras de suor que serão coletadas pelo sistema Macroduct e, posteriormente, analisadas pelo sistema SCA.

## **6 DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

## 6.1 Utilização do SCA

- Conectar o cabo na tomada.
- Ligar o aparelho no botão “POWER”.
- Acenderá uma luz verde.
- Acenderá uma luz em amarelo âmbar no botão “WAIT” (espere) e, em 2 minutos, essa luz apagará, e acenderá uma luz verde no botão “READY” (pronto).
- O display mostrará uma sequência de “000”.
- A célula da condutividade está estabilizada, pronta para receber a amostra de suor.
- Conectar uma das extremidades do espiral (Macroduct®) contendo a amostra de suor na agulha de entrada do aparelho (agulha da esquerda).
- Conectar uma seringa de borracha com agulha (que acompanha o kit) na outra extremidade do espiral (Macroduct®) que contém a amostra do suor que está conectado à entrada do aparelho, e cautelosamente, apertar essa seringa para que o suor seja empurrado e entre no aparelho.
- Assim que a amostra de suor entrar em contato com a célula da condutividade, o display digital, que mostrava “000”, irá rapidamente aumentar a numeração. Quando isso ocorrer, parar de empurrar a amostra do suor. Nesse momento, a amostra irá equilibrar a temperatura da célula, e será mostrado o resultado da leitura no *display* do aparelho.
- Após a leitura, a amostra do suor sai através de um espiral que está conectado à agulha de saída do aparelho (situada à direita) e será armazenada em recipiente adequado com tampa.

## 7 REFERÊNCIAS

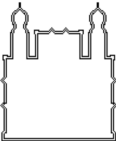
ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”.Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

Macroduct Sweat Collection System Model 3700 SYS – Instruction/service manual.Wescor.INC.

3120 Sweat-Chek - Sweat Conductivity Analyzer - Instruction/service manual.Wescor.INC.

## 8 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

 <p>Ministério da Saúde FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Fernandes Figueira</p>	<p><b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b></p> <p><b>PNEUMOLOGIA PEDIÁTRICA</b></p>	
<p><b>TESTE DO SUOR PELA CONDUTIVIDADE</b></p>		
<p><b>TÍTULO: LIMPEZA DO SWEAT CHEK ANALYZER®</b></p>		

## **Introdução**

Terminada a análise do suor pelo equipamento SCA, é necessária a realização da limpeza do aparelho.

## **1 OBJETIVO**

Descrever como é feita a limpeza do equipamento SCA.

## **2 CAMPO DE APLICAÇÃO**

Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ. Centro de Referência para diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos pacientes portadores de Fibrose Cística do Estado do Rio de Janeiro.

## **3 DEFINIÇÕES, SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS**

- FC: Fibrose Cística
- IFF: Instituto Fernandes Figueira
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TSC: Teste do Suor pela Condutividade
- TS: Teste do Suor
- WSI: Webster Sweat Inducer
- SCA: SweatChekAnalyzer

## **4 RESPONSABILIDADES**

Setor de Gerência de Risco(Qualidade IFF)  
Setor de Manutenção e Engenharia do hospital  
Setor de Pneumologia Pediátrica



## **5 FLUXOGRAMA**

A estimulação do suor por iontoforese por pilocarpina requer a utilização do WSI para produção de amostras de suor, que serão coletadas pelo sistema Macroduct®e, posteriormente, analisadas pelo sistema SCA. Terminado todo esse processo, realizar-se-á a limpeza do equipamento SCA.

## **6 DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

- Após a leitura da amostra do suor pela célula da condutividade do aparelho SCA, inicia-se a limpeza desse equipamento.
- Usando uma seringa com agulha, injetar, cautelosamente, água deionizada em um tubo espiral limpo, conectado à agulha de entrada do aparelho SCA.
- Ao remover os resíduos de sal da célula da condutividade, o display mostrará “000”.
- Em seguida, injetar ar, usando uma seringa conectada à agulha de entrada do aparelho SCA, para remover toda a água da célula.

## **7 REFERÊNCIAS**

ASSESSORIA DE QUALIDADE. POP IFF. ASQ. 001/00 – Elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão – “POP Mãe”. Rio de Janeiro, RJ, 2008. 22 p.

3120 Sweat-Chek - Sweat Conductivity Analyzer - Instruction/service manual. Wescor. INC.

## **8 LISTA DE DISTRIBUIÇÃO**

Original arquivado na Pneumologia Pediátrica do IFF. Cópias: 01(uma) para a Direção, 01(uma) para a Assessoria de Qualidade-IFF, 01(uma) para o Departamento de Pediatria, 01(uma) para o Departamento de Patologia Clínica.

### **Apêndice 3 - Resultados Complementares**

Quatro pacientes apresentaram TSCo com valores negativos e TSCl com valores positivos (FN). Desses, dois possuem análise genética positiva (DF508/DF508; S4X/S4X). Os outros dois pacientes, apesar de possuírem TSCl positivos, apresentaram análise genética negativa para o painel de mutações atualmente utilizado. Foi observado que, se tivesse sido adotado 75 mmol/l, como ponto de corte para TSCo, todos esses quatro pacientes seriam verdadeiro-positivos. Todavia, os exames precisam ser aperfeiçoados, já que um paciente verdadeiro-negativo, ou seja, com TSCo e TSCl negativos, apresentou genética positiva para FC (DF508/R334W). Sete pacientes apresentaram TSCo positivos e TSCl negativos (FP). Desses, quatro foram considerados FC atípicos, com análise genética heterozigota (DF508/N). Os outros dois pacientes têm clínica favorável para FC com presença de baqueteamento digital no exame físico, apresentam escarro com bacteriologia positiva para *Pseudomonas aeruginosa*, possuem tomografia de tórax com imagens compatíveis com Fibrose Cística. E, apenas um desses pacientes tem prova de função pulmonar com distúrbio ventilatório obstrutivo. Ambos, porém, não possuem análise genética até o momento, e não têm história familiar de FC e nem história de íleo meconial. O outro paciente com TSCl negativo e TSCo positivo não possui ainda resultado de análise genética, e apresenta tomografia de tórax e prova de função respiratória normais.