

COMPLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS NA FIBROSE CÍSTICA: MÉTODOS DE ROTINA E NOVAS ALTERNATIVAS

COMPLICATIONS IN CYSTIC FIBROSIS DIAGNOSTIC: ROUTINE METHODS AND NEW ALTERNATIVES

*Paola Braga dos Santos**, *Harleson Lopes de Mesquita***, *Aline Teixeira Guidine****, *Helvécio Cardoso Corrêa Povoá#*, *José Otávio do Amaral Corrêa##*

RESUMO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença grave presente em nosso meio. Apesar dos avanços nos métodos diagnósticos e no tratamento do paciente, existem inúmeros casos que ainda apresentam dificuldades para a definição desta doença. Os métodos mais comuns de diagnóstico são o teste de suor e análise de mutação para confirmação. Porém uma grande parcela dos pacientes com FC é portador de uma mutação não identificada e devem ser diagnosticados por várias outras medidas de disfunções orgânicas relatadas nesse artigo. O presente trabalho teve por objetivo descrever os principais meios de diagnosticar fibrose cística e a importância de uma definição precoce para que melhores resultados terapêuticos sejam atingidos.

PALAVRAS-CHAVE

Fibrose cística. Métodos diagnósticos. CFTR.

ABSTRACT

Cystic Fibrosis (CF) is a several disease present in our midst despite the advances in diagnostic methods and patient's treatment. Despite the improvement there are still many cases that have complicated and unclear diagnosis. There are several ways to diagnosis cystic fibrosis, being more common the sweat test and mutation analysis to confirm. However, a large proportion of CF patients has a mutation that cannot be identified. These patients should be investigated by several other measures of organ dysfunction that this article reports. This study aimed to describe the principal means of diagnosing cystic fibrosis and the importance of an appropriate definition as soon as possible for better therapeutic results.

KEY-WORDS

Cystic fibrosis. Diagnostic methods. CFTR.

1 INTRODUÇÃO

Fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva letal, mais comum em populações caucasoides, com uma incidência de aproximadamente um caso em cada 2.500 europeus, com um número de casos similar no Brasil (RIBEIRO; RIBEIRO, 2002). É um dos distúrbios mais frequentes nos países ocidentais, e extremamente raro nos asiáticos (um em 350.000 na população japonesa) (AHN et al., 2005; FARRELL, 2000; KOH et al., 2006). Embora a expectativa de

vida desses pacientes tenha aumentado nos últimos anos, a mortalidade permanece elevada em pacientes entre 26 e 30 anos, com pacientes chegando, no máximo, a 40 anos de idade (CHAPARRO et al., 2001; CHAUDRY et al., 2006; COMEAU et al., 2004; DAVIS, 2006; PARAD; COMEAU, 2003; SONTAG, 2005).

Essa doença envolve uma função anormal das glândulas exócrinas (CHAUDRY et al., 2006). É causada pela mutação de um gene regulador da condutância transmembrana da fibrose (CFTR) localizado no cromossoma 7 (MOSKOWITZ; GIBSON; EFFMANN, 2005). Este gene abrange 250 kilobases de DNA, representando 5% do DNA genômico; codifica um RNAm transcrito de 6,5 Kilobases (AHN et al., 2005; FARRELL, 2000; KOH et al., 2006; MACEK et al., 1992; ROSENSTEIN; CUTTING, 1998; ROWE; MILLER; SORSCHER, 2005; TIZZANO; BUCHWALD, 1992; ZIELENSKI; TSUI, 1995; YAMASHIRO et al., 1997). Esse RNAm é transcrito em uma proteína com cerca de 1.500 mutações, a CFTR. Estas inúmeras mutações na proteína CFTR contribuem para criar um amplo espectro de gravidade da doença. A mutação mais comum continua a ser a eliminação de um resíduo de fenilalanina na posição 508 da proteína. Esta mutação está presente em quase 70% dos pacientes com FC, enquanto que

Correspondence author: José Otávio do Amaral Corrêa - Universidade Federal de Juiz de Fora - Faculdade de Farmácia - Departamento de Análises Clínicas - Juiz de Fora - MG. joacorrea@gmail.com.

* Faculdade de Minas (FAMINAS) - Muriaé - MG. paolabraga87@yahoo.com.br.

** Universidade Presidente Antônio Carlos - Juiz de Fora - MG; Centro Universitário de Barra Mansa - Barra Mansa - RJ; Suprema Faculdade Ciências Médicas e da Saúde Juiz de Fora - MG. harlefar@hotmail.com.

*** Universidade Presidente Antônio Carlos - Juiz de Fora - MG - aline_guidine@yahoo.com.br.

Universidade Federal Fluminense - Nova Friburgo - RJ. hccp@bol.com.br.

Universidade Federal de Juiz de Fora - Faculdade de Farmácia - Departamento de Análises Clínicas - Juiz de Fora - MG. joacorrea@gmail.com.

Received: 05/2010

Accepted: 08/2010

4% da população geral é estimado como portadores heterozigotos da DF508 (MILLER; ROWE; SORSCHER, 2005; O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009).

Os sintomas apresentados são muitas vezes ligados à doença gastrointestinal e pancreática biliar e susceptibilidade a frequentes infecções respiratórias (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009). As manifestações clínicas podem ser classificadas de acordo também com o aparelho e órgãos acometidos. As principais são: sintomas respiratórios agudos ou persistentes, desnutrição/baixo crescimento físico, esteatorreia com fezes anormais, íleo meconial e obstrução intestinal, prolapso retal, doença hepatobiliar e sinusopatia (BETHESDA, 2005; CHAUDRY et al., 2006; FIELDS et al., 2006; WELSH et al., 2001).

A dieta adequada tem um efeito significativo sobre o curso da doença e desenvolvimento físico do paciente, devendo ser livre, sem restrição de gorduras e com acréscimo de sal, pois o gasto calórico é elevado nesses pacientes. O estado nutricional de pacientes com FC é um elemento crucial no prognóstico dessa doença (ROSENFELD et al., 1997; HAYLLAR; WILLIAMS; WISE, 1997).

O uso agressivo de antibióticos é, sem dúvida, também uma das principais razões para a melhora do paciente com FC, que apresentam frequentemente infecções respiratórias de um modo geral. Isso, no entanto, tem um preço, podendo causar uma insuficiência renal associada a repetidas doses de aminoglicosídeos, além de alergias a medicamentos, que também são comuns e muitas vezes prejudicam as alternativas de tratamento. Por isso, é necessário pesquisar e trabalhar mais, para obter uma melhoria nos métodos de previsão, buscando tratamentos mais específicos e ideais para pacientes que sofrem de FC (SMYTH et al., 2008).

Embora a grande maioria das pessoas com FC são diagnosticadas através de sinais e sintomas clássicos da doença com resultados laboratoriais concordantes, o diagnóstico não é tão claro em cerca de 5% a 15% dos indivíduos (BETHESDA, 2005; BOECK, 2006; PALOMAKI, 2002; PARAD; COMEAU, 2005). Para facilitar o processo de diagnóstico e assim melhorar o acesso à assistência médica vital, a Cystic Fibrosis Foundation convocou um painel de especialistas para elaborar critérios para o diagnóstico da FC (ROSENSTEIN; CUTTING, 1998). No entanto, alguns pacientes oferecem dificuldade para se classificar, devido à presença de limitadas características clínicas da FC, o que torna inconclusivos os resultados dos testes de diagnóstico (BETHESDA, 2005; BOECK, 2006; PALOMAKI, 2002; PARAD; COMEAU, 2005).

O presente trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão sobre métodos diagnósticos da FC, apresentando os tradicionais testes laboratoriais empregados na rotina e os métodos mais avançados utilizados na elucidação de casos mais complicados e de difícil diagnóstico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento bibliográfico de artigos e resumos indexados, utilizando-se as palavras-chave “fibrose cística e Cistic fibrosis” nos indexadores MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), PubMed, LILACS (Literatura Latinoamericana em Ciências da Saúde), COCHRANE, SCIELO (Scientific Electronic Library Online), BIREME, dissertações e teses no período de 1990 a 2010, em língua portuguesa e inglesa. Os temas envolvendo diagnósticos foram selecionados e utilizados neste trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DIAGNÓSTICO

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva letal (COMEAU et al., 2004; PARAD; COMEAU, 2003; SONTAG, 2005). Essa doença envolve uma função anormal das glândulas exócrinas (CHAUDRY et al., 2006). Causada por uma mutação de um gene regulador da condutância transmembrana da fibrose (CFTR), localizado no cromossoma 7 (MOSKOWITZ; GIBSON; EFFMANN, 2005). Embora a grande maioria das pessoas com FC são diagnosticadas através de sinais e sintomas clássicos da doença com resultados laboratoriais concordantes, o diagnóstico não é tão claro em cerca de 5% a 15% dos indivíduos (BETHESDA, 2005; BOECK, 2006; PALOMAKI, 2002; PARAD; COMEAU, 2005). Esses pacientes oferecem dificuldade para se classificar devido à presença de limitadas características clínicas da FC, o que torna inconclusivo os resultados dos testes de diagnóstico (BETHESDA, 2005; BOECK, 2006; MILLER; ROWE; SORSCHER, 2005; PALOMAKI, 2002; PARAD; COMEAU, 2005).

Mas significativos avanços no diagnóstico e no tratamento da FC têm ocorrido durante a última década, o que tem aumentado a nossa compreensão sobre a doença, tornando este um momento oportuno para reexaminar os critérios para o diagnóstico. O diagnóstico da FC deve se basear na presença de uma ou mais manifestações fenotípicas (clínicas) características:

- doença sinusial ou pulmonar crônica;
- insuficiência exócrina pancreática crônica;
- teste duplamente positivo de triagem neonatal associado(s) a

evidência de elevação anormal da concentração de cloro no suor, em duas ocasiões diferentes ou, em casos especiais, identificação de duas mutações de FC.

3.1.1 Teste de suor

Teste de suor é um termo geral que se refere à análise quantitativa ou qualitativa do suor para determinar a concentração de cloreto para

o diagnóstico de princípio de FC; indicações para a realização de um teste de suor incluem: triagem neonatal positiva para FC; análise de mutação na proteína CFTR, sinais clínicos sugestivos de FC, ou história familiar (LEGRYS et al., 2007).

A medição das concentrações de cloro do suor tem sido o esteio da FC, uma vez que o diagnóstico de um procedimento padronizado, conhecido como o método de Gibson-Cooke, foi criado em 1959 (GIBSON; COOKE, 1959). A descoberta da CFTR confirmou o papel do transporte de eletrólitos na etiologia da FC e deu uma justificativa molecular para o teste do suor no diagnóstico de FC. Embora a capacidade de teste para mutações do gene CFTR dê uma nova dimensão para o diagnóstico de FC, o teste de cloro no suor continua sendo o procedimento padrão para confirmar um diagnóstico de FC. Metodologia adequada é fundamental para o melhor desempenho no teste do suor e diagnóstico preciso da FC. Portanto, a Fundação de Fibrose Cística exige que o teste do suor realizado em centros credenciados de FC, seja feito com cuidado, de acordo com as normas recomendadas por este comitê. O teste do suor é obtido pelo método da iontoforese por pilocarpina (método de Gibson - Cooke), para estimular a secreção das glândulas sudoríparas, seguido pela coleta e quantificação de suor em gaze ou filtro de papel ou em uma bobina Macroduct, e análise da concentração de cloreto (LEGRYS et al., 2007).

A comissão da Fundação da Fibrose Cística destaca alguns aspectos importantes do teste de suor, que geralmente tem três partes técnicas: estimulação, recolhimento e análise do suor, seguidos pela interpretação dos resultados (LEGRYS, 1996). Os resultados de um teste de suor com a concentração de cloro > 60 mmol/l é considerado como diagnóstico de FC; porém, esse exame deve ser interpretado adequadamente no contexto da idade do paciente, do quadro clínico apresentado, história familiar, idade e da experiência do médico em diagnosticar FC.

Pela gravidade da doença e pelo prognóstico reservado da mesma, o diagnóstico de FC somente poderá ser confirmado como descrito acima e somente após ser repetido em ocasiões diferentes (DAVIS, 2001). Embora a grande maioria dos pacientes com FC tenha concentrações elevadas de cloreto no suor, existem muitos relatos de pacientes com sintomas clínicos sugestivos de FC, mas com valores normais de cloro (STEWART et al., 1995).

Posteriormente o gene da FC foi clonado e a análise da mutação CFTR tornou-se disponível. Certas mutações foram encontradas para ser associadas com um “teste do suor normal”. O cloreto de suor dentro do intervalo (40-59 mmol/l) também pode representar um dilema no diagnóstico, e é provável que seja diagnóstico de FC. Portanto, as crianças que apresentam níveis de cloro no suor no limite (aceitável) necessitam de acompanhamento, observação cuidadosa, teste de suor com dosagens repetidas e análises de mutação na proteína CFTR (MASSIE; CLEMENTS, 2005).

A maioria dos erros relacionados com o teste de suor é causada pela coleta inadequada, erros técnicos e má interpretação dos resultados

(GREEN, 2002). Os aspectos técnicos da realização de um teste do suor são rigorosos, apresentando, mais frequentemente, as instituições que realizam poucos testes. Aproximadamente 98% dos pacientes com FC têm concentrações de cloro no suor maior do que 60 mmol/l. Há uma variedade de doenças, embora raras, associadas com elevação de suor (LEGRYS, 1996). Estas condições são geralmente facilmente diferenciáveis da FC e não devem ser considerados verdadeiros falsos positivos. Elas incluem o eczema atópico, doença de Addison não tratada, a displasia ectodérmica, alguns tipos de doenças de depósito de glicogênio e hipotireoidismo não tratados (NCCLS, 2000). O teste de suor medido dentro das primeiras 24 horas após o nascimento também pode estar transitoriamente elevado. Até 25% dos recém-nascidos normais apresentam uma concentração de sódio no suor maior que 65 mmol/l no primeiro dia de vida, mas rapidamente esse valor diminui. Os valores maiores que 160 mmol/l são fisiologicamente impossíveis e sugerem erro de laboratório (GREEN, 2002).

A causa mais importante de um teste do suor falso negativo é o edema. Edema é comumente visto em crianças com hipoproteinemia, que pode ser secundária à insuficiência pancreática exócrina, antes do diagnóstico e do tratamento com reposição de enzimas pancreáticas. O uso de mineralocorticóides também pode diminuir a concentração de suor. Do ponto de vista técnico, a taxa de transpiração é importante na obtenção de resultados precisos, como a concentração de eletrólitos do suor, e está relacionado à taxa de suor. As taxas de baixo suor diminuem a concentração de eletrólitos. Embora pareça ser mais difícil obter uma amostra de suor adequada na primeira infância, estudos têm mostrado que o teste do suor pode ser realizado com sucesso em bebês de poucas semanas (FARRELL; KOSCIK, 1996; LEGRYS, 1996).

Os dados obtidos após a introdução da triagem neonatal informaram que 99,2% dos bebês têm uma colheita adequada de suor em uma idade média de 6 semanas. Um estudo recente demonstrou que 74% das crianças (em geral) \leq 6 semanas de idade pode obter sucesso no teste de suor, e que os fatores maturacionais têm um impacto leve na concentração de cloreto no suor (ENG et al., 2005). Como orientação geral, os testes de suor podem confiantemente ser realizados após duas semanas de idade, em crianças com mais de 3 kg e, ocasionalmente, o teste do suor pode ser tentado em crianças após 7 dias de idade (GREEN, 2002). Sistemas de coleta variam em relação às amostras insuficientes (HEELEY; WOOLF; HEELEY, 2000). O teste do suor realizados em um laboratório de confiança ainda é uma boa medida da função da CFTR na maioria dos casos.

3.1.2 Análise das mutações da fc (teste de dna)

A identificação do gene da FC, assim como das suas mutações, que se relacionam com as manifestações clínicas – relação genótipo – fenótipo levantou a possibilidade de se utilizar análise das mutações

para substituir com maior precisão o teste de suor em determinadas circunstâncias. Inúmeros problemas de interpretação clínica surgiram nos últimos anos em decorrência do grande número de mutações descritas. A presença de mutações relacionadas com a FC, em cada alelo, prediz, com elevado grau de certeza, que aquele indivíduo tem FC (STREIT et al., 2003).

Até hoje já foram descritas mais de 1.500 mutações, e não seria surpresa saber que a CFTR possa causar uma variedade enorme de manifestações clínicas, que às vezes se superpõem (PEREZ et al., 2007; STREIT et al., 2003). A mutação CFTR mais comum é a supressão 3 pb, localizada no exon 10, nomeado DF508. Esta mutação produz um apagamento de fenilalanina na posição 508 da proteína. A mutação DF508 é distribuída a nível mundial, mas é mais prevalente entre os caucasianos, atingindo uma frequência de 80% em alguns países da Europa Ocidental. Outras mutações, como G542X, G551D e N1303K são encontradas em todo o mundo, dependendo das características geográficas e étnicas (BOBADILLA et al., 2002). Na América Latina, a frequência da mutação DF508 varia de 59% (Argentina) a 23% (Costa Rica). Outras mutações comuns nesta região são G542X, N1303K, W1282X e R1162X (PEREZ et al., 2007).

Vários estudos analisando o espectro de mutações CFTR têm sido realizados no Brasil. Algumas características especiais deste país são a sua dimensão geográfica e a variabilidade étnica das diferentes regiões. De acordo com um estudo recente, a estimativa média da frequência DF508 calculada nos estados brasileiros está próxima a 48% (RASKIN et al., 2008). Vários estudos utilizando diferentes métodos de biologia molecular têm sido publicados no Brasil, mostrando o perfil de mutação em alguns estados ou regiões. Apesar das grandes variações na origem étnica entre as diferentes regiões, (G542X, N1303K e R1162X), foram consideradas as mutações mais frequentes no Brasil e não DF508 (BERNARDINO et al., 2000; PEREZ et al., 2007; RASKIN et al., 2003).

Além disso, as recentes mutações CFTR encontradas em países latino-americanos indicam que um painel “mínimo”, que abrange as seis mutações mais frequentes relatados no Brasil (F508, G542X, R1162X, W1282X, N1303K e R334W), tenha um poder de detecção estimado de 53% e que, mesmo com a melhora da sensibilidade dos testes genéticos, uma grande parcela dos pacientes com FC será portador de uma mutação não identificada. Esses pacientes necessariamente deverão ser diagnosticados com as outras possíveis medidas da disfunção da CFTR, como exemplo o teste do suor. O esperado é que a adição, no futuro, de outras mutações já observadas no país (ou seja, R334W, R553X, G551D), aumente significativamente o poder de detecção deste painel (PEREZ et al., 2007).

Em países com grande heterogeneidade étnica, como o Brasil, é necessário ter painéis de mutações de regiões específicas, permitindo um aumento da sensibilidade para fins de diagnóstico e de programas de rastreio da FC.

3.1.3 Testes de triagem neonatal

A implementação da triagem neonatal para fibrose cística envolve grande controvérsia, tendo em conta questões como os benefícios do diagnóstico precoce da doença, os diferentes protocolos para a detecção e os custos envolvidos que, no Brasil, acarretariam aproximadamente gastos de quinze mil reais por paciente diagnosticado (VAN et al., 2006).

Em várias partes do mundo tem-se usado a dosagem quantitativa da tripsina imunorreativa (TIR) para a seleção de FC. Tripsinogênio é um precursor da enzima pancreática, cuja concentração é geralmente elevada no sangue de recém-nascidos com FC (FARRELL; FARRELL, 2003).

Vários protocolos de rastreamento são baseados no teste de TIR como uma ferramenta preliminar para a seleção de FC. Estes protocolos têm vantagens e desvantagens. A escolha depende de vários fatores, como o custo, o tempo da coleta, e o fundo genético específico em cada região a ser rastreada. A dosagem de TIR é sensível, entretanto, pode não detectar todas as crianças afetadas (WILCKEN; WILEY, 2003).

O protocolo inicialmente adotado por programas de seleção foi o TIR em duas fases. Quando o primeiro TIR (TIR 1) é elevado, é necessário estabelecer uma segunda amostra de sangue para novas medições TIR (TIR 2); se o segundo teste também for elevado, é necessário realizar o teste do suor para um diagnóstico definitivo (WILCKEN; WILEY, 2003).

O método de determinação TIR é o ponto de partida para a triagem neonatal em todos os protocolos utilizados até hoje, embora os níveis de TIR possam ser elevados em várias situações não relacionadas com a FC, levando em conta a heterogeneidade da população brasileira e a necessidade de investigar as várias mutações, apesar do grande número conhecido de falso-positivos (ARAUJO et al., 2005; RASKIN; FAUCZ, 2001).

Considerando o declínio do valor TIR com o tempo, entre crianças com e sem FC e a sensibilidade do teste (87%) conclui-se que o uso do protocolo TIR não é uma estratégia aceitável para a triagem neonatal para FC. Nesta base, a maioria dos centros que selecionavam quem possuía FC pela dosagem quantitativa da tripsina imunorreativa, começaram a usar a análise da biologia molecular de amostras de sangue coletadas de pacientes com TIR1 alterados (ARAUJO et al., 2005; VAN et al., 2006). Ao introduzir a escolha o TIR-DNA como alternativa de diagnóstico, o escolhido obviamente eram as mutações mais prevalentes na população em estudo (FARRELL; FARRELL, 2003).

No Brasil, como há uma grande diversidade genética na população, o ideal seria selecionar as mutações mais frequentes em cada região para FC, e a seleção por análise genética deveria ser planejada para detectar um maior número de mutações, pois, como é o caso de regiões

do sul da Europa, principalmente Espanha e Itália, apenas a busca por pelo menos 20 mutações permite a detecção de aproximadamente 70% dos indivíduos afetados. Assim, a desvantagem do uso de TIR-DNA no Brasil pode ser associada com a falha de diagnóstico, devido à heterogeneidade da nossa população (RASKIN et al., 2003; SOUTHERN et al., 2007).

3.1.4 Medidas de diferença de potencial do epitélio nasal (dpn)

Anormalidade no transporte iônico no epitélio respiratório dos pacientes com FC corresponde a uma alteração no padrão de diferença de potencial nasal em relação aos indivíduos saudáveis. Na realidade, essas diferenças refletem a disfunção da proteína CFTR nos pacientes com FC (ROSENSTEIN; CUTTING, 1998).

O DPN elevado, acompanhado de uma história familiar de FC ou um quadro clínico sugestivo da doença, apoia o diagnóstico de FC. No entanto, a ausência de um aumento na DPN não exclui o diagnóstico de FC, pois um resultado falso-negativo pode ocorrer na presença de um epitélio inflamado. É recomendado que a DPN seja avaliada pelo menos duas vezes em momentos diferentes. Entretanto, essa técnica só está disponível em centros altamente especializados e requer uma padronização rigorosa (YANKASKAS et al., 2004).

3.1.5 Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico pré-natal tem sido realizado em núcleos familiares de FC. Para a realização do diagnóstico molecular, é essencial conhecer as mutações dos pais. Diagnóstico pré-natal de FC pode ser conseguido de duas maneiras: a primeira através de biópsia de vilosidade coriônica com subsequente análise genética do material, no feto, aproximadamente pela 10^a, 12^a semana de gestação ou na 17^a semana, pela aminocentese. A análise do DNA por PCR permite identificar se o feto tem ou não FC.

Infelizmente, muitas vezes as mutações dos pais não são conhecidas. Nesses casos, utiliza-se a análise indireta, através de polimorfismo intragênico. Para essa análise, é necessário que o casal já tenha um filho fibrocístico, e que tenhamos encontrado polimorfismos que sejam informativos. Para uma maior exatidão do diagnóstico pré-natal, o aconselhável é a utilização dos dois métodos.

Na outra técnica é feita uma indução de ovulação múltipla, com coleta de vários óvulos para inseminação artificial extrauterina. Na fase de mórula, faz-se uma micropunção biópsia celular com aspiração do material genético dessa célula e uma análise para identificar a presente mutação da FC. Dessa maneira, pode-se selecionar o ovo fecundado, sem a FC, que será reimplantado no útero materno (VERLINSKY; KULIEV, 1999).

3.1.6 Outros testes que contribuem para o diagnóstico

3.1.6.1 Bacteriologia respiratória

A determinação ou isolamento das bactérias presentes no escarro ou nas secreções respiratórias de pacientes com manifestações atípicas de FC pode ser útil para o diagnóstico de FC, visto que os pacientes com a doença apresentam infecções bacterianas recorrentes. Mais de 80% da mortalidade FC são atribuíveis à insuficiência respiratória crônica causada por infecções bacterianas dos pulmões, geralmente provocadas por *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Burkholderia cepacea* (BETHESDA, 2008; HARRISON, 2007). A cultura positiva para *P. aeruginosa* do tipo mucoide em escarro, em esfregaço orofaríngeo, em aspirado sinusal ou em lavado bronco alveolar, especialmente se persistente, é muito sugestivo de FC. Também a colonização persistente por *Staphylococcus aureus* ou *Burkholderia cepacea* sugerem diagnóstico de FC, embora esses patógenos possam ser encontrados em outras patologias respiratórias (PALMER et al., 2005; PALMER; AYE; WHITELEY, 2007).

3.1.6.2 Avaliação urogenital

Uma das características fenotípicas mais marcantes na FC é a puberdade tardia, azoospermia em até 95% dos homens e infertilidade em 20% das mulheres. (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009). A infertilidade masculina acontece devido à ausência congênita bilateral dos vasos deferentes (ACBVD), que resulta de uma obstrução no transporte dos espermatozoides. Por esse motivo, quando as manifestações da FC são atípicas, é necessário que se faça uma avaliação cuidadosa da parte urogenital.

Somente se pode afirmar o diagnóstico de FC em pacientes com ACBVD ou azoospermia obstrutiva, se existir evidência de disfunção da proteína reguladora do transporte iônico através das membranas (CFTR), com identificação de duas mutações, demonstradas por concentrações elevadas de cloro no suor, coletado em duas ocasiões diferentes. No entanto, 80% dos homens com ACBVD isolados levam uma ou duas mutações no gene CFTR, o que ajuda no diagnóstico (CLAUSTRES, 2005).

3.1.6.3 Testes de função exócrina pancreática

A grande maioria dos pacientes com FC tem função pancreática anormal, então a confirmação da insuficiência pancreática (IP) pode sugerir FC, sendo importante quantificar a sua intensidade, para melhor adequarmos a terapia de reposição enzimática. Existem vários métodos para avaliar a função exócrina do pâncreas, conforme relatado

a seguir (EVANS; FITZGERALD; McKAY, 2001; LEUS; VAN; ROBBERECHT, 2000):

Teste da secretina pancreosimina: teste padrão áureo para quantificar a função pancreática exócrina. Consiste na determinação de pH e das concentrações de bicarbonato e enzimas pancreáticas no suco duodenal, colhido por tubagem duodenal, após estimulação com secretina. Tem as inconveniências de ser invasivo e de alto custo (LEUS; VAN; ROBBERECHT, 2000);

Dosagem da gordura fecal: descrito em 1949, por Van de Kamer, ainda é usado para avaliar má digestão e má absorção de gorduras. Consiste na coleta das fezes de 72 horas e determinação da gordura fecal extraída com éter de petróleo. Apesar da praticidade e do baixo custo, tem a inconveniência da coleta de todas as fezes durante 72 horas (difícil no lactente) (LEUS; VAN; ROBBERECHT, 2000);

Coefficiente de absorção de gordura: método que avalia a relação entre uma quantidade de gordura ingerida (5g/kg/dia) e a quantidade de gordura excretada. Tem o inconveniente da coleta durante 72 horas (LEUS; VAN; ROBBERECHT, 2000);

Esteatócrito: método descrito por Phuapradit et al. (1981), modificado por Tran et al. (1994), consiste na diluição de uma pequena amostra de fezes, centrifugação e quantificação da coluna de gordura. A inconveniência é sua variabilidade, que pode ser contornada com a média de algumas medidas. Têm-se as vantagens do baixo custo, pequena amostra de fezes e praticidade. (LEUS; VAN; ROBBERECHT, 2000).

4 CONCLUSÃO

Os procedimentos de diagnósticos relatados aqui reconhecem a vasta gama de heterogeneidade e gravidade da doença e descreve alguns métodos para facilitar a vida do indivíduo doente, havendo ainda limites para o diagnóstico de FC. As recomendações são baseadas no estado atual do conhecimento e deve ser considerada uma “obra em progresso”, deixando espaço para melhorias para o diagnóstico dessa doença. No entanto, espera-se que o consenso da opinião aqui apresentada forneça orientação maior para estabelecer ou excluir o diagnóstico de FC, e permita, assim, o acesso aos serviços médicos essenciais e possibilite também os melhores resultados para os indivíduos com a doença.

5 REFERÊNCIAS

AHN, K.M.; PARK, H.Y.; LEE, J.H.; LEE, M.G.; KIM, J.H.; KANG, I.J.; LEE, S.I. Cystic fibrosis in Korean children: a case report identified by a quantitative pilocarpine iontophoresis sweat test and genetic analysis. **Journal of Korean Medical Science**, Seoul, v. 20, n. 1, p. 153-157, 2005.

ARAUJO, F.G.; NOVAES, F.C.; SANTOS, N.P.; MARTINS, V.C.; SOUZA, S.M.; SANTOS, S.E. Prevalence of deltaF508, G551D, G542X, and R553X mutations among cystic fibrosis patients in the North of Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 11-15, 2005.

BERNARDINO, A.L.; FERRI, A.; PASSOS, M.R.; KIM, C.E.; NAKAIE, C.M.; GOMES, C.E. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. **Genetic Testing**, Larchmont, v. 4, n. 1, p. 69-74, 2000.

BETHESDA, M.D. Cystic Fibrosis Foundation 2005 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry Annual Data Report 2005. **Cystic Fibrosis Foundation**, 2005.

BETHESDA, M.D. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report to the Center Directors. **Cystic Fibrosis Foundation**; 2005.

BETHESDA, M.D. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry/2007 Annual Data Report to the Center Directors. 2008. **Cystic Fibrosis Foundation**, 2008.

BOBADILLA, J.L.; MACEK, M.; FINE, J.P.; FARRELL, P.M. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations - correlation with incidence data and application to screening. **Human Mutation**, New York, v. 19, n. 6, p. 575-606, 2002.

BOECK, K.; WILSCHANSKI, M.; CASTELLANI, C.; TAYLOR, C.; CUPPENS, H.; DODGE, J. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. **Thorax**, London, v. 61, n. 7, p. 627-635, 2006.

CHAPARRO, C.; MAURER, J.; GUTIERREZ, C.; KRAJDEN, M.; CHAN, C. Infection with Burkholderia cepacia in cystic fibrosis: outcome following lung transplantation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 163, n. 1, p. 43-48, 2001.

CHAUDRY, G.; NAVARRO, O.M.; LEVINE, D.S.; OUDJHANE, K. Abdominal manifestations of cystic fibrosis in children. **Pediatric Radiology**, Berlin, v. 36, n. 6, p. 233-240, 2006.

CLAUSTRES, M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. **Reproductive Biomedicine Online**, Cambridge, v. 10, n. 1, p. 14-41, 2005.

COMEAU, A.M.; PARAD, R.B.; DORKIN, H.L.; DOVEY, M.; GERSTLE, R.; HAVER, K. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DNA testing is incorporated: a cystic fibrosis newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections. **Pediatrics**, Monthly, v. 113, n. 6, p. 1573-1581, 2004.

- DAVIS, P.B. Cystic fibrosis since 1938. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 173, n. 5, p. 475-482, 2006.
- DAVIS, P.B. Cystic fibrosis. **Pediatrics in Review**, Evanston, v. 22, n. 8, p. 257-264, 2001.
- ENG, W.; LEGRYS, V.A.; SCHECHTER, M.S.; LAUGHON, M.M.; BARKER, P.M. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. **Pediatric Pulmonology**, Philadelphia, v. 40, n. 1, p. 64-67, 2005.
- EVANS, A.K.; FITZGERALD, D.A.; MCKAY, K.O. The impact of meconium ileus on the clinical course of children with cystic fibrosis. **The European Respiratory Journal**, Copenhagen, v. 18, n. 5, p. 784-789, 2001.
- FARRELL, M.H.; FARRELL, P.M. Newborn screening for cystic fibrosis: ensuring more good than harm. **The Journal of Pediatrics**, Mosby, v. 143, n. 6, p. 707-712, 2003.
- FARRELL, P.M. Improving the health of patients with cystic fibrosis through newborn screening. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. **Advances in Pediatrics**, New York, v. 47, p. 79-115, 2000.
- FARRELL, P.M., KOSCIK, R.E. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. **Pediatrics**, Springfield, v. 97, n. 4, p. 524-528, 1996.
- FAUCZ, F.R.; GIMENEZ, J.; RAMOS M.D.; PEREIRA, F.L.; ESTIVILL, X.; RASKIN, S. Cystic fibrosis in a southern Brazilian population: characteristics of 90% of the alleles. **Clinical Genetics**, Copenhagen, v. 72, n. 3, p. 218-223, 2007.
- FIELDS, T.M.; MICHEL, S.J.; BUTLER, C.L.; KRISS, V.M.; ALBERS, S.L. Abdominal manifestations of cystic fibrosis in older children and adults. **AJR. American Journal of Roentgenology**, Springfield, v. 187, n. 5, p. 1199-1203, 2006.
- GIBSON, L.E.; COOKE, R.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, Springfield, v. 23, n. 3, p. 545-549, 1959.
- GIUSTI, R.; BADGWELL, A.; IGLESIAS, A.D. New York State cystic fibrosis consortium: the first 2.5 years of experience with cystic fibrosis newborn screening in an ethnically diverse population. **Pediatrics**, Springfield, v. 119, n. 2, p. e460-e467, 2007.
- GREEN, A. Guidelines for the performance of the sweat test or the investigation of cystic fibrosis in the UK. **UKNEQAS**, 2002.
- HARRISON, F. Microbial ecology of the cystic fibrosis lung. **Microbiology (Reading, England)**, Reading, v. 153, n. 4, p. 917-923, 2007.
- HEELEY, M.E.; WOOLF, D.A.; HEELEY, A.F. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 82, n. 5, p. 420-424, 2000.
- KOH, W.J.; KI, C.S.; KIM, J.W.; KIM, J.H.; LIM, S.Y. Report of a Korean patient with cystic fibrosis, carrying Q98R and Q220X mutations in the CFTR gene. **Journal of Korean Medical Science**, Seoul, v. 21, n. 3, p. 563-566, 2006.
- LEGRYS, V.A. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 129, n. 6, p. 892-897, 1996.
- LEGRYS, V.A.; YANKASKAS, J.R.; QUITTELL, L.M.; MARSHALL, B.C.; MOGAYZEL, P.J. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 151, n. 1, p. 85-89, 2007.
- LEUS, J.; VAN, B.S.; ROBBERECHT, E. Detection and follow up of exocrine pancreatic insufficiency in Cystic fibrosis: a review. **European Journal of Pediatrics**, Berlin, v. 159, n. 8, p. 563-568, 2000.
- MACEK, M.; HAMOSH, A.; KIESEWETTER, S.; MCINTOSH, I.; ROSENSTEIN, B.J.; CUTTING, G.R. Identification of a novel nonsense mutation (L88X) in exon 3 of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in a native Korean cystic fibrosis chromosome. **Human Mutation**, New York, v. 1, n. 6, p. 501-502, 1992.
- MASSIE, J.; CLEMENTS, B. Diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening: The Australasian experience-twenty years and five million babies later: A consensus statement from the Australasian pediatric respiratory group. **Pediatric Pulmonology**, Philadelphia, v. 39, n. 5, p. 440-446, 2005.
- MOSKOWITZ, S.M.; GIBSON, R.L.; EFFMANN, E.L. Cystic fibrosis lung disease: genetic influences, microbial interactions, and radiological assessment. **Pediatric Radiology**, Berlin, v. 35, n. 8, p. 739-757, 2005.
- NCCLS. Sweat testing: Sample Collection and Quantitative Analysis; Approved Guideline - Second edition. Document C34-A2. Wayne: **The Committee**, 2000.
- O'SULLIVAN, B.P.; FREEDMAN, S.D. Cystic fibrosis. **Lancet**, London, v. 373, n. 9678, p. 1891-1904, 2009.
- PALMER, K.L.; MASHBUM, L.M.; SINGH, P.K.; WHITELEY, M. Cystic fibrosis sputum supports growth and cues key aspects of *Pseudomonas aeruginosa* physiology. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 187, n. 15, p. 5267-5277, 2005.
- PALMER, K.L.; AYE, L.M.; WHITELEY, M. Nutritional cues control *Pseudomonas aeruginosa* multicellular behavior in cystic

- fibrosis sputum. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 189, n. 22, p. 8079-8087, 2007.
- PALOMAKI, G.E.; HADDOW, J.E.; BRADLEY, L.A.; FITZSIMMONS, S.C. Updated assessment of cystic fibrosis mutation frequencies in non-Hispanic Caucasians. **Genetics in Medicine**, Baltimore, v. 4, n. 2, p. 90-94, 2002.
- PARAD, R.B.; CCOMEAU, A.M. Diagnostic dilemmas resulting from the immunoreactive trypsinogen/DNA cystic fibrosis newborn screening algorithm. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 147, n. 3, p. s78-82, 2005.
- PARAD, R.B.; COMEAU, A.M. Newborn screening for cystic fibrosis. **Pediatric Annals**, New York, v. 32, p. 528-535, 2003.
- PEREZ, M.M.; LUNA, M.C.; PIVETTA, O.H.; KEYEUX, G. CFTR gene analysis in Latin American CF patients: heterogeneous origin and distribution of mutations across the continent. **Journal of Cystic Fibrosis**, Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 194-208, 2007.
- RASKIN, S.; FAUCZ, F.R. Aspectos genéticos da fibrose cística. In: Carakushansky G, organizador. Doenças genéticas em pediatria. São Paulo: Editora Guanabara Koogan. p. 227-242, 2001.
- RASKIN, S.; PEREIRA, F.L.; REIS, F.C.; ABREU, F.; MAROSTICA, P.; ROZOV, T. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. **Journal Cystic Fibrosis**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 15-22, 2008.
- RASKIN, S.; PEREIRA, L.; REIS, F.; ROSARIO, N.A.; LUDWIG, N.; VALENTIM, L. High allelic heterogeneity between Afro-Brazilians and Euro-Brazilians impacts cystic fibrosis genetic testing. **Genetic Testing**, Larchmont, v. 7, n. 3, p. 213-218, 2003.
- RIBEIRO, D.J.; RIBEIRO, A.F. Controvérsias na fibrose cística: do pediatra ao especialista. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 78, n. 2, p. 171-186, 2002.
- ROSENSTEIN, B.J.; CUTTING, G.R. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 132, n. 4, p. 589-595, 1998.
- ROWE, S.M.; MILLER, S.; SORSCHER, E.J. Cystic fibrosis. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 352, p. 1992-2001, 2005
- SMYTH, A.; LEWIS, S.; BERTENSHAW, C.; CHOONARA, I.; MCGAW, J.; WATSON, A. Case-control study of acute renal failure in patients with cystic fibrosis in the UK. **Thorax**, London, v. 63, n. 6, p. 532-535, 2008.
- SONTAG, M.K.; HAMMOND, K.B.; ZIELENSKI, J.; WAGENER, J.S.; ACCURSO, F.J. Two-tiered immunoreactive trypsinogen (IRT/IRT)-based newborn screening for cystic fibrosis in Colorado: screening efficacy and diagnostic outcomes. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 147, n. 3, p. S83-8, 2005.
- SOUTHERN, K.W.; MUNCK, A.; POLLITT, R.; TRAVERT, G.; ZANOLLA, L.; DANKERT, R. JI. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. **Journal of Cystic Fibrosis**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 57-65, 2007.
- STEWART, B.; ZABNER, J.; SHUBER, A.P.; WELSH, M.J.; MCCRAY, P.B. Normal sweat chloride values do not exclude the diagnosis of cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 151, n. 3 (Pt 1), p. 899-903, 1995.
- STREIT, C.; BURLAMAQUE, A.C.; GIGLIANI, R.; SARAIVA, M.L. CFTR gene: molecular analysis in patients from South Brazil. **Molecular Genetics and Metabolism**, Orlando, v. 78, n. 4, p. 259-264, 2003.
- TIZZANO, E.F., BUCHWALD, M. Cystic fibrosis: beyond the gene to therapy. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 120, n. 3, p. 337-349, 1992.
- VAN, M.E.; DANKERT, H.M.; VERKERK, P.H.; DANKERT, J.E. Cost-effectiveness of 4 neonatal screening strategies for cystic fibrosis. **Pediatrics**, St. Louis, v. 118, n. 3, p. 896-905, 2006.
- VERLINSKY, Y.; KULIEV, A. Preimplantation genetic diagnosis. **Reproductive Medicine Review**, Cambridge, v. 7, n. 1, p. 1-10, 1999.
- WELSH, M.J.; RAMSEY, B.W.; ACCURSO, F.J.; SCRIVER, C.R.; BEAUDET, A.L.; VALLE, D.; SLY, W.S. eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. **New York: McGraw-Hill**. 5121-5188, 2001.
- WILCKEN, B.; WILEY, V. Newborn screening methods for cystic fibrosis. **Paediatric Respiratory Reviews**, London, v. 4, n. 4, p. 272-277, 2003.
- YAMASHIRO, Y.; SHIMIZU, T.; OGUCHI, S.; SHIOYA, T.; NAGATA, S.; OHTSUKA, Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, New York, v. 24, n. 5, p. 544-547, 1997.
- YANKASKAS, J.R.; MARSHALL, B.C.; SUFIAN, B.; SIMON, R.H.; RODMAN, D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. **Chest**, Chicago, v. 125, n. 1, p. 1-39, 2004.
- ZIELENSKI, J.; TSUI, L.C. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 29, p. 777-807, 1995.