

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente

Renata Marcos Bedran

**Acurácia do exame de condutividade no diagnóstico de fibrose cística em recém-nascidos e lactentes jovens com triagem neonatal positiva**

Belo Horizonte

2021

Renata Marcos Bedran

**Acurácia do exame de condutividade no diagnóstico de fibrose cística em recém-nascidos e lactentes jovens com triagem neonatal positiva**

**Versão final**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Augusto  
Moreira Camargos

Coorientadora: Profa. Dra. Cristina  
Gonçalves Alvim

Belo Horizonte

2021

Bedran, Renata Marcos.  
B413a Acurácia do exame de condutividade no diagnóstico de Fibrose Cística em recém-nascidos e lactentes jovens com triagem neonatal positiva [manuscrito]. / Renata Marcos Bedran. -- Belo Horizonte: 2021. ??f.: il.  
Orientador (a): Paulo Augusto Moreira Camargos.  
Coorientador (a): Cristina Gonçalves Alvim.  
Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Fibrose Cística. 2. Suor. 3. Criança. 4. Triagem Neonatal. 5. Dissertação Acadêmica. I. Camargos, Paulo Augusto Moreira. II. Alvim, Cristina Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WI 820

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA - CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE  
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

### FOLHA DE APROVAÇÃO

#### ACURÁCIA DO EXAME DE CONDUTIVIDADE IÔNICA NO DIAGNÓSTICO DE FIBROSE CÍSTICA EM RECÉM-NASCIDOS E LACTENTES JOVENS COM TRIAGEM NEONATAL POSITIVA

**RENATA MARCOS BEDRAN**

Tese de Doutorado defendida em 13 de setembro de 2021, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS DA SAÚDE, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente e aprovada pela Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação supramencionado da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes Professores Doutores: Paulo Augusto Moreira Camargos – Orientador (UFMG), José Dirceu Ribeiro (UNICAMP), Fabiola Villac Adde (Hospital Sírio-Libanês), Cláudia Ribeiro de Andrade (UFMG), José Nélcio Januário (UFMG) e Cristina Gonçalves Alvim – Coorientadora (UFMG).

Belo Horizonte, 13 de setembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola Villac Adde, Usuário Externo**, em 14/09/2021, às 19:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Augusto Moreira Camargos, Professor Magistério Superior - Voluntário**, em 15/09/2021, às 08:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Dirceu Ribeiro, Usuário Externo**, em 15/09/2021, às 18:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudia Ribeiro de Andrade, Professora do Magistério Superior**, em 16/09/2021, às 11:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristina Goncalves Alvim, Membro**, em 16/09/2021, às 13:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Nélcio Januario, Diretor(a) de órgão complementar**, em 16/09/2021, às 15:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0962107** e o código CRC **17A1E7C0**.

## **Universidade Federal de Minas Gerais**

Reitora: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor: Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-Reitor de Pesquisa: Mário Fernando Montenegro Campos

## **Faculdade de Medicina**

Diretor: Prof. Humberto José Alves

Vice-Diretora: Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação: Profa. Eli Iola Gurgel Andrade

Chefe do Departamento de Pediatria: Profa. Laura Maria de Lima B. Facury Lasmar

## **Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente**

Coordenadora: Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli

Sub-Coordenadora: Profa. Débora Marques de Miranda

## **Colegiado**

Prof.<sup>a</sup> Ana Cristina Simões e Silva – Titular

Prof. Eduardo Araújo de Oliveira – Suplente

Prof.<sup>a</sup> Débora Marque de Miranda - Titular

Prof. Leandro Fernandes Malloy Diniz – Suplente

Prof.<sup>a</sup> Cláudia Regina Lindgren Alves – titular

Prof.<sup>a</sup> Zilma Silveira Nogueira Reis – Suplente

Prof.<sup>a</sup> Juliana Gurgel Giannetti - Titular

Prof.<sup>a</sup> Ivani Novato Silva – Suplente

Prof.<sup>a</sup> Lêni Márcia Anchieta – Titular

Prof.<sup>a</sup> Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana – Suplente

Roberta Maia de Castro Romanelli – Titular

Luana Caroline dos Santos – Suplente

Sérgio Veloso Brant Pinheiro – Titular

Cássio da Cunha Ibiapina – Suplente

Laura Rangel Drumond de Menezes – Titular

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer à Deus, por estar sempre presente, em todos os momentos de minha vida!

Ao Flávio Amaro, meu marido e companheiro, e aos meus filhos, Rafael e Felipe, pelo apoio, amor, e por darem um sentido especial a toda essa caminhada;

Aos meus queridos pais e irmãos, pelo carinho, amizade, suporte, e por sempre me apoiarem e acreditarem em mim;

Aos meus sogros, pais que a vida me deu de presente, pelo carinho e por torcerem sempre por mim;

Ao meu orientador, Paulo Augusto Moreira Camargos, por ter me proporcionado uma orientação majestosa, durante todas as fases de elaboração desse trabalho;

À minha co-orientadora, Cristina Alvim, pelo apoio e conselhos, que carrego por toda a vida;

À querida equipe de Pneumologia Pediátrica do HC-UFMG, pelo apoio;

À Olívia Gonçalves Sader, pelo trabalho essencial na organização de dados;

Às equipes de estatística e do CPG da Faculdade de Medicina, UFMG;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão do financiamento parcial (Processo número 486201/2013-9) que contribuiu para a viabilização do projeto de pesquisa que gerou esta Tese;

À equipe do NUPAD e aos pacientes, pois sem eles, esse trabalho não seria possível;

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

## RESUMO

### **Objetivo:**

Esta Tese se propõe a responder quatro indagações, para verificar:

- 1) a concordância entre dois testes concomitantes de condutividade iônica (CI);
- 2) as taxas e os preditores para a obtenção de volume insuficiente de suor (QNS) para realização de CI;
- 3) as taxas e os preditores para a obtenção de QNS para realização de cloridrometria;
- 4) a acurácia da CI como método diagnóstico de fibrose cística.

### **Métodos:**

Trata-se de estudo prospectivo, com recém-nascidos e lactentes com idade inferior a 3 meses de vida, que apresentaram dois resultados alterados de tripsinogênio imunorreativo (TIR) na triagem neonatal.

Para cada indagação adotou-se uma metodologia, adiante enunciada. Os resultados obtidos foram analisados por testes estatísticos apropriados.

- 1) foram colhidas simultaneamente 2 amostras de suor do mesmo paciente, no mesmo laboratório e pelo mesmo profissional;
- 2) definiu-se como QNS um volume inferior a 15 µl e analisadas as variáveis explicativas desse desfecho;
- 3) definiu-se como QNS um peso inferior a 75 mg e analisadas as variáveis explicativas desse desfecho;
- 4) de acordo com as diretrizes STARD foram calculadas as propriedades da CI.

### **Resultados**

- 1) foram recrutados 320 pacientes. O índice Kappa foi 1,0 e o coeficiente de Spearman's foi 0.83;
- 2) foram incluídos 1020 pacientes. O QNS foi de 8.9% e risco maior de QNS em prematuros e crianças com peso no dia da coleta do suor inferior a 3845g (OR 5,8 e 5,3 respectivamente);
- 3) foram recrutados 1016 pacientes. O QNS foi de 3,3%, com maior risco em indivíduos prematuros (OR 5,4), com peso no dia da coleta do suor inferior a 3800g (OR 4,0) e ganho de peso diário inferior a 26g (OR 3,6);
- 4) foram admitidos 1176 pacientes. A CI apresentou sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, acurácia, RV positiva e negativa de 98,5%, 99,9%, 98,5%, 99,9%, 99,8%, 1091,7

e 0,01 respectivamente. Os valores do coeficiente kappa e da área sob a curva ROC foram 0,99 e 98,8%, respectivamente.

### **Conclusão**

- 1) A CI do suor apresentou excelente concordância quando realizada repetidamente;
- 2) A CI apresentou taxa de QNS aceitável pela CFF. Para evitar a repetição desnecessária do exame, para a realização da CI sugere-se que o paciente apresente um peso no dia da coleta superior a 3845g;
- 3) A cloridrometria apresentou taxa de QNS aceitável pela CFF. Para evitar a repetição desnecessária do exame, seria indicado realizar o exame com o lactente acima de 37 semanas, ganho de peso diário igual ou superior a 26g e um peso não inferior a 3800g no dia da coleta do suor.
- 4) Foram evidenciados excelentes valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, além de valores de verossimilhança em um grupo de 1176 pacientes com idade inferior a 3 meses de vida.

Desta forma, os resultados sugerem que a CI pode ser usada para o diagnóstico de FC em de recém-nascidos e lactentes jovens, com triagem neonatal alterada, o que permitiria a sua utilização em laboratórios de pequeno e médio porte e a consequente descentralização do diagnóstico de FC, atualmente baseado em poucos laboratórios de referência.

Palavras-chave: Fibrose cística, Gibson e Cooke, teste do suor, crianças, triagem neonatal, condutividade

## ABSTRACT

### **Objective:**

This Thesis proposes to answer four questions:

- 1) verify the agreement between two concomitant sweat conductivity (SC) essays;
- 2) verify the rate and predictors for quantity not sufficient (QNS) of sweat collection to perform SC;
- 3) verify the rate and predictors for QNS of sweat collection to perform coulometry;
- 4) verify the SC accuracy as a diagnostic method for cystic fibrosis.

### **Methods:**

This is a prospective study, with newborns and infants aged less than 3 months, identified by the statewide newborn screening program through two previous positive immunoreactive trypsinogen (IRT) results. For each question, a different methodology was adopted, described below. The results obtained were analyzed by appropriate statistical test.

- 1) two sweat samples were obtained simultaneously from each forearm of each patient at the same laboratory;
- 2) QNS was defined as a volume lower than 15  $\mu$ l of sweat collection and the explanatory variables for this outcome were analyzed;
- 3) QNS was defined as a weight lower than 75 mg of sweat collection and the explanatory variables of this outcome were analyzed and
- 4) according to the STARD guidelines, the SC properties were calculated.

### **Results**

- 1) 320 patients were recruited. The Kappa index value was 1.0 and the Spearman's coefficient was 0.83;
- 2) 1020 patients were included. The QNS rate was 8.9%. A higher QNS rate was found in preterm infants and children weighing less than 3845g on the day of sweat collection (OR 5.8 and 5.3 respectively);
- 3) 1016 patients were recruited. The QNS rate was 3.3%. A higher QNS rate was found in preterm infants (OR 5.4), infants weighting less than 3800g (OR 4.0) on the day of sweat collection and a daily weight gain lower than 26g (OR 3.6).
- 4) 1176 patients were admitted. SC had sensitivity, specificity, PPV, NPV, accuracy, positive and negative likelihood ratios of 98.5%, 99.9%, 98.5%, 99.9%, 99.8%, 1091.7

and 0.01 respectively. Kappa coefficient and the area under the ROC curve were 0.99 and 98.8%, respectively.

### **Conclusion**

- 1) SC showed an excellent agreement when performed repeatedly, under the same conditions, and in the same individual.
- 2) SC showed acceptable QNS rate, according to the CFF recommendation for this group. To avoid unnecessary SC repetition, it is suggested wait until 37 weeks (corrected age) and a weigh no less than 38450g on the day of the collection.
- 3) Coulometry showed acceptable QNS rate, according to the CFF recommendation for this group. For a success coulometry analysis, it would be indicated wait until 37 weeks (corrected age), presents a daily weight gain equal to or greater than 26g, and especially weight of not less than 3800g on the day of sweat collection.
- 4) Regarding SC accuracy excellent sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, as well as positive and negative likelihood values were evidenced in a group of 1176 infants younger than three months.

Thus, the results suggest that SC can be used safely as CF diagnosis in newborns and young infants.

Keywords: Cystic fibrosis, Gibson and Cooke, sweat test, children, neonatal screening, conductivity

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AUC	Área sobre a curva
CI	Condutividade iônica
CFF	<i>Cystic Fibrosis Foundation</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DP	Desvio Padrão
FC	Fibrose Cística
FM	Faculdade de Medicina
GCT	Técnica de Gibson e Cooke
TIR	Tripsinogênio imunorreativo
QNS	Quantidade não suficiente
mA	Miliamperes
MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
μl	Microlitros
NUPAD	Núcleo de ações e pesquisa em apoio ao diagnóstico
PICOS	População, Intervenção, Comparação, Outcome, Tipo de estudo
PRISMA	Preferred reporting items of systematic reviews and meta-analyses
PTN	Programa de triagem neonatal
RN	Recém-nascido
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RV	Razão de verossimilhança
SC	Sweat conductivity
STARD	Standards for Reporting Diagnostic Accuracy
TN	Triagem neonatal
TS	Teste do suor
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VPP	Valor preditivo positivo
VPN	Valor preditivo negativo

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA: Artigo 1: “Acurácia da condutividade iônica no diagnóstico laboratorial da fibrose cística: revisão da literatura”....	19
3. OBJETIVO .....	31
3.1. Objetivo geral .....	31
3.2. Objetivos específicos .....	31
4. MÉTODOS .....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
5.1. Artigo 2: Agreement between two simultaneous sweat conductivity assays in newborns and young infants .....	38
5.2. Artigo 3: Rate and predictors for the quantity not sufficient of sweat collection for the determination of sweat conductivity in newborns and young infants .....	44
5.3. Artigo 4: Frequência e preditores da coleta de quantidade insuficiente de suor para realização de cloridrometria em recém-nascidos e lactentes menores de três meses de idade .....	52
5.4. Artigo 5: Emprego do teste de condutividade iônica do suor para o diagnóstico de fibrose cística: estudo da validade diagnóstica .....	64
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	80
7. ANEXOS .....	81
7.1. Glossário .....	81
7.2. Parecer do comitê de ética em pesquisa (COEP) .....	84
7.3. Declaração de apoio institucional .....	85
7.4. Cópia da folha de rosto para pesquisa .....	86
7.5. Termo de consentimento livre e esclarecido .....	87

## 1. INTRODUÇÃO

Em 1595, um professor de botânica e anatomia da Universidade de Leiden, Holanda, chamado Pieter Paul descreveu alterações pancreáticas (esteatorréia e insuficiência pancreática) em uma criança de 11 anos.<sup>1</sup> Na ocasião, era dito que as crianças que eram mais “salgadas”, eram consideradas “enfeitiçadas” e morriam precocemente. Anos mais tarde, em 1606, o primeiro relato de suor salgado foi realizado por um professor de medicina espanhol, Alonso y de los Ruyzes de Fonteca, o qual associava que os dedos ficavam salgados após se tocar a testa de crianças “enfeitiçadas”.<sup>1</sup>

Na virada do século 20, foram descritas as primeiras associações de doença pulmonar com função pancreática e diarreia. Desde então, achava-se que a doença estava ligada à doença celíaca, e apenas em 1938 ela foi desvinculada da doença celíaca e denominada de “fibrose cística do pâncreas”, por Dorothy H. Andersen.<sup>2</sup>

Em 1945 acreditava-se que a doença tinha relação com muco espesso e passou a ser denominada mucoviscidose.<sup>1</sup> Em 1946, Dorothy H. Andersen relatou que a doença tinha origem genética, sendo de caráter autossômica recessiva. No ano de 1948, uma onda de calor atingiu Nova York e di Sant’Agnese mostrou uma relação entre desidratação grave e suor salgado. Segundo ele, pacientes com o suor salgado desidratavam mais, porém o autor não obteve sucesso ao apresentar suas ideias à Sociedade Americana de Pediatria no ano de 1953.<sup>1</sup>

Inúmeros estudos foram realizados em FC ao longo de décadas, até se confirmar ser uma doença autossômica recessiva, de elevada morbidade, que afeta tanto adultos quanto crianças.<sup>3</sup> Atualmente a incidência estimada da doença no Brasil está em torno de 1:10.000.<sup>3</sup>

Em 1959 o teste do suor (TS) foi finalmente descrito por Gibson e Cooke, sendo considerado um método preciso para o diagnóstico de fibrose cística (FC).<sup>1</sup> O método clássico de Gibson e Cooke (GCT), também conhecido como coulometria ou medida quantitativa do cloreto no suor, vem sendo utilizado com padrão-ouro para diagnóstico de FC.<sup>4</sup>

Várias tentativas foram realizadas para se obter o diagnóstico precoce de FC na década de 70, porém a triagem neonatal (TN) se tornou viável apenas no ano de 1979, através da análise da dosagem de tripsinogênio imunorreativa (TIR) em gotas de sangue secas na Nova Zelândia. Na ocasião foi descoberto que pacientes com níveis de TIR aumentada apresentavam um risco aumentado para FC.<sup>5</sup>

A dosagem de TIR é um exame realizado na primeira semana de vida e, se alterado deve ser repetido até o 30º dia. Duas dosagens positivas levantam a suspeita de FC, e o paciente deve ser encaminhado para fazer o teste confirmatório. Na maior parte dos países da Europa e nos Estados Unidos a confirmação de FC se dá pela pesquisa de mutação genética.<sup>6</sup> Já em países de média e baixa renda, a cloridrometria ainda é muito usada e evidencia o diagnóstico de FC, de forma confiável, em 98% dos pacientes, uma vez em que a genotipagem é pouco disponível.<sup>6</sup>

Meu primeiro contato com FC foi em minha residência de Pneumologia Pediátrica, no ano de 2010. Logo após minha formação na especialidade, fui convidada para fazer parte da equipe interdisciplinar de FC em um grande centro de referência, (Hospital das Clínicas, HC-UFMG). Fazer parte dessa equipe foi muito importante tanto para minha vida profissional, quanto para pessoal, pois me permitiu trabalhar ao lado de excelentes médicos, mestres e amigos, inclusive minha mãe, que viu o ambulatório de FC nascer durante sua carreira. Ao longo desses anos pude acompanhar o grande desafio que a doença impõe, a particularidade na evolução de cada paciente, o benefício do tratamento precoce e o sorriso no rosto das famílias a cada nova descoberta da ciência.

Uma das grandes vitórias alcançadas certamente foi a implantação da TN em MG, no ano de 2003, pois até então, o diagnóstico de FC era mais tardio, com a presença da clássica tríade: suor salgado, dificuldade de ganho de peso e infecções respiratórias de repetição, além, claro, da história familiar positiva, uma vez que a doença tem padrão autossômico recessivo.<sup>7</sup> Desta forma os pacientes chegavam ao ambulatório muitas vezes, em fases avançadas da doença e apresentavam um pior prognóstico.

Desde 2001, a TN para FC vem sendo realizada no Brasil, através da dosagem de TIR. Por ser um método de triagem, possui elevada sensibilidade e baixa especificidade, por isso gera muitos exames falso-positivos, especialmente em regiões e países de baixa incidência.<sup>8</sup> Estima-se que de cada dez pacientes com TN positiva para FC, apenas um será verdadeiramente portador da doença. Com isso, nove de cada dez famílias são encaminhados para a realização do teste do suor por um resultado falso-positivo da TN.

Durante toda a minha trajetória com pacientes portadores de FC, sempre foi nítido o elevado número de famílias que moravam no interior e viajavam longos percursos em busca de um diagnóstico definitivo para seus filhos, porém essa resposta só poderia ser dada após a realização de um teste definitivo, a cloridrometria. Esse exame demanda a presença de profissionais altamente especializados e experientes para sua realização, ou seja, necessita de centros de referência específicos, tornando o processo mais demorado,

e financeiramente mais dispendioso.<sup>9-11</sup> Em Minas Gerais, por exemplo, estado de área geográfica semelhante à França, 586.528km<sup>2</sup>, existe apenas um único centro responsável pela TN para FC, o NUPAD, Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio ao Diagnóstico da Faculdade de Medicina da UFMG.

O NUPAD/UFMG é localizado na cidade de Belo Horizonte, e proporciona uma cobertura para a TN de 94% dos nascidos vivos em MG, além de receber amostras de sangue para realização da dosagem da TIR dos 853 municípios mineiros.

O paciente triado como positivo é encaminhado a um dos três centros de referência (Belo Horizonte, Juiz de Fora e Uberlândia) para diagnóstico e acompanhamento de FC. Assim, a grande maioria das famílias precisa enfrentar longas viagens, com recém-nascidos e lactentes muito jovens, em busca de um resultado definitivo para suas crianças, gerando angústia e estresse, além de retardar o diagnóstico e aumentar custo para o município com o transporte.<sup>12-13</sup>

Além disso, a cloridrometria é um método complexo, que demanda várias etapas de coleta e análise, o que a torna sujeita a erros (falso-positivos e falso-negativos).<sup>14</sup> Por isso, algumas diretrizes internacionais recomendam que idealmente o centro realize uma média de 100 testes por ano (sendo cada técnico responsável por no mínimo 10 testes ao ano).<sup>15</sup>

Estudo recente realizado no estado de São Paulo, mostrou que, mesmo em centros de referência, não havia homogeneidade na técnica de execução da cloridrometria, pela ausência de equipamentos certificados e falta de atendimento às diretrizes internacionais.<sup>9</sup>

Desta forma, visando facilitar a vida das famílias que receberam um resultado positivo de triagem neonatal, especialmente em um país extenso como o Brasil, a possibilidade de descentralização do diagnóstico de FC, traria mais conforto para as famílias, com maior agilidade no diagnóstico, redução de estresse, além de redução significativa de custos com transporte. Um método mais simples teria também, como vantagem, a menor chance de erros.

Considerado como método de triagem, inclusive para *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF), a condutividade iônica (CI) é um método semi-automatizado, mais rápido e menos complexo que a cloridrometria. Ela permite a realização do exame com um menor volume de suor e fornece, quase que instantaneamente, os valores equivalentes de cloreto de sódio (NaCl) no suor em mmol/L. Neste método os equívocos associados à pesagem e ao risco de evaporação ficam praticamente eliminados.<sup>11,14</sup>

Sendo assim, a CI constitui uma opção viável para a descentralização do diagnóstico e reorganização dos serviços de saúde, no que tange à TN para FC, permitindo, por exemplo, a implantação de pólos regionais.

Um ponto importante a ser levantado é a questão do custo, pois o valor de aquisição do cloridrômetro é quase 6 vezes superior ao do analisador de condutividade iônica.

Vale ressaltar que, segundo a Portaria nº 288, de 21 de março de 2013, e o Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da fibrose cística do Ministério da Saúde de 2021, a CI foi validada pela CONITEC e está incluída na tabela de procedimentos, medicamentos, órteses, próteses e materiais do SUS.<sup>16,17</sup>

Assim, torna-se necessário a realização de estudos para verificar se a CI do suor pode ser utilizada, de maneira segura, como método diagnóstico de fibrose cística em recém-nascidos e crianças com idade inferior a 3 meses de vida em substituição ao método clássico e dispendioso da cloridrometria. O objetivo desse estudo foi verificar a concordância quando realizados dois testes concomitantes de CI, avaliar a quantidade insuficiente de suor pelos métodos de CI e cloridrometria, além de analisar a acurácia da CI (sensibilidade, especificidade, valores preditivos e razões de verossimilhança).

Nessa Tese serão então apresentados cinco artigos científicos originais, conforme regulamentação o regimento do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A revisão da literatura será apresentada na forma de artigo de revisão, intitulado Artigo 1: “Acurácia da condutividade iônica no diagnóstico laboratorial da fibrose cística: revisão da literatura”.

Para a divulgação dos resultados da pesquisa e discussão, constam nessa tese os seguintes artigos:

Artigo 2: “Agreement between two simultaneous sweat conductivity assays in newborns and young infants”

Artigo 3: “Predictors for the quantity not sufficient sweat collection for ionic conductivity in newborns and young infants”

Artigo 4: “Frequência e preditores de coleta de quantidade insuficiente de suor para cloridrometria em lactentes menores de três meses de idade”

Artigo 5: “Emprego do teste de condutividade iônica do suor para o diagnóstico de fibrose cística: estudo da validade diagnóstica”

#### Referências

1. Quinton PM. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. *Physiol Rev.* 1999;79:S3-22.
2. Andersen DH. Cystic Fibrosis of the Pancreas and Its Relation To Celiac Disease. *Am J Dis Child.* 1938;56:344-99.
3. Domingos MT, Magdalena NIR, Cat MNL, Watanabe AM, Rosário Filho NA. Sweat conductivity and coulometric quantitative test in neonatal cystic fibrosis screening. *J Pediatr.* 2015;91:590–5.
4. Jayaraj R, Barton P V., Newland P, Mountford R, Shaw NJ, Mccarthy E, et al. A reference interval for sweat chloride in infants aged between five and six weeks of age. *Ann Clin Biochem.* 2009;46:73–8.
5. Scotet V, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn screening for CF across the globe—where is it worthwhile? *Int J Neonatal Screen.* 2020;6:1-18.
6. Alexander S, Alshafi K, Al-yaghchi C, Anderson A, Balfour- I, Bentley S, et al. Clinical Guidelines : Care of Children with Cystic Fibrosis, Royal Brompton Hospital. 2020;8:1–310.
7. Camargos P, Gomes DL, Alvim CG, Gomes FS, Cajazeiro JMD. From lip to lab: Salty tasting skin is the main clue that raises clinical suspicion of cystic fibrosis in young infants. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2015;104:e210–5.
8. Mocelin H, Fischer GB, Castro SM De, Grandi T, Chapper M, Rispoli T, et al. Triagem neonatal para fibrose cística no SUS no Rio Grande do Sul. *Bol Cient Pediatr.* 2017;06:3–8.
9. Servidoni MF, Gomez CCS, Marson FAL, Toro AADC, Ribeiro MÂG de O, Ribeiro JD, et al. Sweat test and cystic fibrosis: overview of test performance at public and private centers in the state of São Paulo, Brazil. *J Bras Pneumol.* 2017;43:121–8.
10. Eng W, LeGrys VA, Schechter MS, Laughon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatr Pulmonol.* 2005;40:64–7.
11. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J*

- Cyst Fibros. 2003;2:1–7.
12. 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*. 2011;46:23–30.
  13. Abdulhamid I, Kleyn M, Langbo C, Gregoire-Bottex M, Schuen J, Shanmugasundaram K, et al. Improving the Rate of Sufficient Sweat Collected in Infants Referred for Sweat Testing in Michigan. *Glob Pediatr Heal*. 2014;1:1–7.
  14. Cinel G, Dođru D, Yalçin E, Özçelik U, Gürcan N, Kiper N. Sweat conductivity test: Can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? *Turk J Pediatr*. 2012;54:576–82.
  15. Athanzio R, Silva Filho L, Vergara A, Ribeiro A, Riedi C, Procianoy E, et al. Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística. 2017;43:219–45.
  16. Saúde M da. CONITEC Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Fibrose Cística. Brasília; 2021.
  17. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas da Fibrose Cística; Portaria nº 288, de 21 de março de 2013. Legislações - SAS, 2013.

## 2- ARTIGO DE REVISÃO

### **Acurácia da condutividade iônica no diagnóstico laboratorial da fibrose cística: revisão da literatura**

Editado segundo normas de publicação do Jornal de Pediatria

## **Acurácia da condutividade iônica no diagnóstico laboratorial da fibrose cística: revisão da literatura**

### Resumo

*Objetivo:* Realizar revisão dos estudos que analisaram a acurácia da condutividade iônica para o diagnóstico de fibrose cística

*Métodos:* Busca por artigos publicados entre os anos de 1990 e 2021, sem restrição de idioma. Foram incluídos artigos originais que compararam a condutividade iônica do suor com a cloridrometria, método padrão-ouro para o diagnóstico da fibrose cística. A busca abrangeu as bases de dados Pubmed, Embase, Biblioteca Virtual em Saúde. A presente revisão seguiu as orientações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA).

*Resultados:* Foram identificados 139 artigos, seis (4,3%) dos quais foram selecionados. A maioria dos estudos analisou populações em diversas faixas etárias, sendo incluídos desde recém-nascidos até adultos, cujas amostras variaram de 102 a 738 indivíduos. Um único artigo recrutou 3834 pacientes. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e coeficiente de kappa variaram de 83,3% a 100%, 96,2% a 100%, 83,3% a 100%, 94,7% a 100% e 0,89 a 1,0. Apenas um artigo forneceu o valor das razões de verossimilhança positiva e negativa, que equivaleram a 31,7 e zero, respectivamente.

*Conclusões:* Os estudos revelaram uma ótima acurácia e, portanto, a utilidade clínica da condutividade iônica, certamente como exame de triagem para FC e, dependendo da confirmação desses resultados em futuros estudos, tem potencial para ser adotado como teste diagnóstico para esta enfermidade.

## Introdução

A cloridrometria, descrita inicialmente por Gibson e Cooke em 1959, avalia quantitativamente a concentração de cloreto no suor após iontoforese por pilocarpina e é o padrão-ouro para o diagnóstico da fibrose cística (FC).<sup>1</sup> Ela demanda diversas etapas de coleta e análise da amostra de suor, apresentando assim, chance de erros.<sup>2</sup> A coleta é realizada com uma gaze em contato com a região previamente estimulada, durante 30 minutos. Posteriormente, essa gaze é pesada em uma balança analítica e enviada para dosagem de cloretos em aparelho específico, o cloridrômetro.<sup>1,2</sup> Assim, esse método requer laboratório especializado, equipe experiente e treinada, além de apresentar elevado custo.<sup>2</sup>

Considerado como método de triagem para FC pela CFF,<sup>3</sup> a condutividade iônica (CI) do suor é realizada por meio de indução de sudorese no antebraço com discos contendo pilocarpina (Piloge1<sup>®</sup>) por 5 minutos, com posterior inserção do coletor Macroduct<sup>®</sup>, um outro disco, feito de material plástico, côncavo e concêntrico, com um orifício central que possibilita a coleta de suor. Ele possui um corante azul que permite a visualização da amostra através de tubo capilar.<sup>4-7</sup> A CI é analisada em aparelho específico que compõe este sistema (Sweat-Chek Analyzer<sup>®</sup>), que mede a capacidade do suor de conduzir uma corrente elétrica. Assim, embora o cloreto de sódio ainda seja o componente primário, a CI mede a concentração de outros eletrólitos (íon potássio, bicarbonato e lactato), e por isso apresenta valor em torno de 15 mmol/L superior ao da cloridrometria.<sup>8-10</sup>

Estudos foram publicados com o objetivo de demonstrar que a CI poderia ser tão confiável quanto a cloridrometria para diagnóstico ou exclusão de FC, com bons índices de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo cujos resultados, no seu conjunto, contemplaram grupos variados de pacientes (102 a 3834 pacientes), nas mais variadas faixas etárias (do nascimento aos 54 anos).<sup>2,9,11-14</sup>

Entretanto, apesar de vários autores descreverem a boa acurácia da CI,<sup>2,9,11-13,15-16</sup> e defenderem o seu uso como método diagnóstico de FC, a *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF) e o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ainda a consideram como método de triagem.<sup>3,17</sup>

Vale lembrar que um teste diagnóstico visa fornecer uma informação de confiança para a condição do paciente que, conseqüentemente, irá repercutir na conduta médica de instituir ou não o tratamento adequado. Sabe-se que o teste padrão-ouro busca um

diagnóstico definitivo para aqueles pacientes com triagem positiva. Por isso, ele deve ser submetido a rigorosa avaliação de qualidade, através da verificação da sensibilidade, especificidade, valores preditivos e razões de verossimilhança. O teste ideal é aquele que apresenta elevada acurácia, ao passo que um teste considerado como de triagem, visa caracterizar a probabilidade de pessoas assintomáticas terem ou não a doença, ou seja, não é capaz de dar um diagnóstico, apenas assinalar maior ou menor probabilidade de estar doente.<sup>18</sup>

Com isso, a confirmação da segurança e da acurácia da CI, um exame menos complexo, permitiria sua indicação como método para diagnóstico para FC.

Assim, a presente revisão teve como objetivo analisar os estudos que verificaram a acurácia da condutividade iônica em relação com a cloridrometria para Fibrose Cística.

## **Método**

### Fonte de dados e estratégia de busca

Foi realizada a busca por artigos originais publicados entre os anos de 1990 e 2021, sem restrições de idioma, indexados nas bases de dados PubMed, Embase, Biblioteca Virtual em Saúde.

Os descritores identificados no Medical Subject Headings (MeSH) da base PubMed foram, "cystic fibrosis"[MeSH Terms] AND "sweat testing"[All Fields] OR "sweat chloride concentration"[All Fields] AND "sweat conductivity"[All Fields] OR "conductivity"[All Fields] AND ("infant, newborn"[MeSH Terms] OR ("infant"[All Fields] AND "newborn"[All Fields]) OR "newborn infant"[All Fields] OR "neonate"[All Fields]) AND ("diagnosis"[Subheading] OR "diagnosis"[All Fields] OR "diagnosis"[MeSH Terms]).

### Seleção dos estudos

A presente revisão seguiu as orientações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) para elaboração de revisões.<sup>19</sup>

Em uma primeira etapa, artigos duplicados foram excluídos e na etapa seguinte, foram avaliados individualmente os títulos e os resumos dos artigos, porém apenas os artigos que atenderam os critérios de elegibilidade foram acessados na íntegra (ver fluxograma em Figura 1).

### Processo de inclusão e exclusão

Foram incluídos artigos originais que recrutaram pacientes de qualquer faixa etária, submetidos à condutividade iônica e à cloridrometria, para avaliar a acurácia da primeira no diagnóstico de fibrose cística, independentemente do método empregado para a coleta da amostra de suor.

Foram excluídos artigos de revisão, cartas ao editor, resumos de congresso, dissertações e teses.

### Extração de dados

A busca de referências bibliográficas foi baseada na estratégia PICOS (População, Intervenção, Comparação, Outcome/Desfecho, Tipo de estudo).<sup>20</sup>

Essa estratégia visa buscar a resposta para a seguinte indagação científica: “a condutividade iônica do suor, quando comparada com a cloridrometria, possui boa acurácia?”

Sendo assim os componentes da pesquisa, seguindo o anagrama PICOS foram:

P- pacientes que apresentaram suor analisado tanto por condutividade iônica e quanto por cloridrometria;

I- emprego da condutividade iônica do suor;

C- pacientes com diagnóstico de FC realizado pela cloridrometria;

O- avaliação da acurácia da condutividade iônica do suor (baseado nos valores sensibilidade, especificidade, valores preditivos, acurácia, razões de verossimilhança e curva ROC);

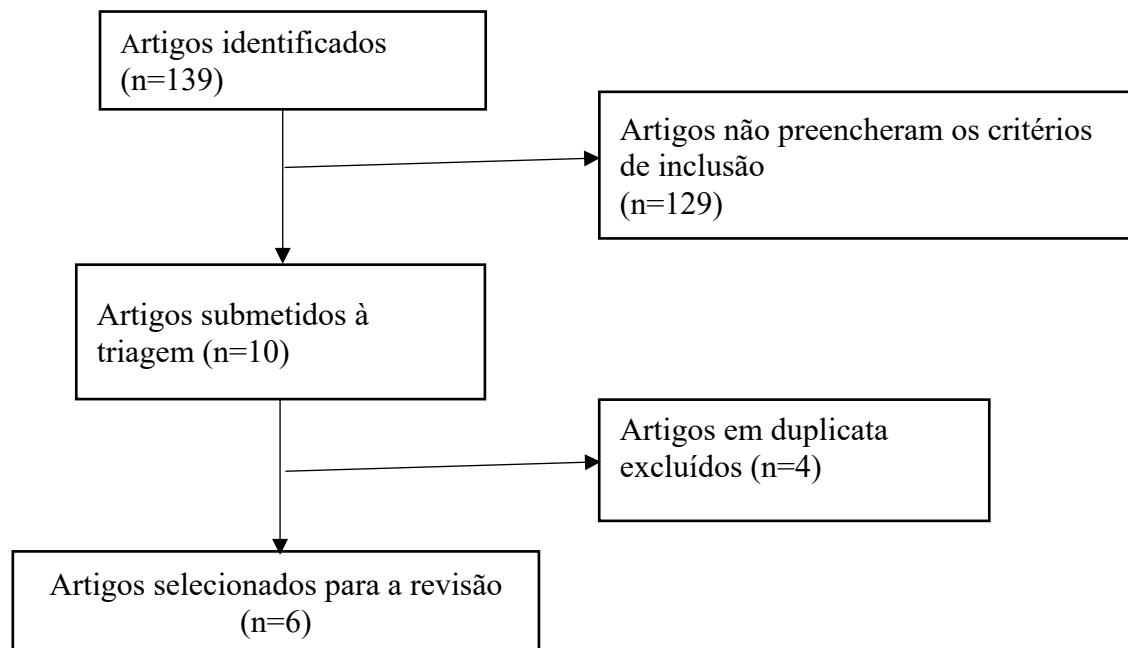
S- estudo prospectivo.

## **Resultados**

### Busca e seleção

A busca nas bases de dados identificou 139 publicações, porém 129 (92,8%) não atendiam aos critérios de elegibilidade e foram excluídas. Quatro delas estavam em duplicata, e também foram excluídas. Foi realizada a leitura minuciosa dos seis artigos restantes, que fizeram parte revisão, conforme exposto na Figura 1.

Figura 1- Fluxograma do processo de seleção dos artigos com os respectivos critérios de inclusão e exclusão



#### *Características dos estudos selecionados*

As características dos seis estudos estão descritas na tabela 1, onde se evidencia que a todos foram prospectivos, publicados após o ano de 2000. A metade deles foi realizada no Brasil, porém somente um incluiu apenas lactentes menores de 3 meses.

A tabela 1 contém a síntese de cada estudo, sendo que, para a sua construção, os objetivos e conclusões foram transcritos de acordo com as expressões utilizadas pelos próprios autores.

Tabela 1. Características dos estudos que avaliaram a acurácia da CI

Autor, Ano, País	Delineamento	Tamanho da amostra	Faixa etária	Objetivo	Propriedades da condutividade (%)	Conclusão
Mastela, 2000, Itália	Prospectivo	318	12 dias a 46 anos	Verificar a confiabilidade da condutividade em comparação com GCT.	S: 97,3 E: 97,3 VPP: 100 VPN: 99,7 Kappa: 0,99 AUC: não informados	CI apresenta sensibilidade e especificidade elevadas, porém resultados positivos ou limítrofes devem ser confirmados pelo GCT
Lezana, 2003, México	Prospectivo	3834	30 dias a 54 anos	Avaliar a capacidade da condutividade iônica para discriminar indivíduos com e sem FC.	S: 99,7 E: 100 VPP: 100 VPN: 99,9 Kappa: 0,99 AUC: não informado	CI mostrou boa acurácia no diagnóstico da FC
Mattar, 2010, Brasil	Prospectivo	102	6 meses a 18 anos	Comparar os valores de cloro no suor pelo teste de iontoforese pela pilocarpina com os de condutividade iônica em pacientes com e sem FC.	S: 100 E: 100 VPP: 100 VPN: 100 Kappa: 1,0 AUC: 100	CI apresentou altos valores para sensibilidade e especificidade.
Cinel, 2012, Turquia	Prospectivo	138	3 meses a 23 anos	Comparar os valores de cloretos no suor com os de condutividade para excluir ou não FC.	S: 92,9 E: 100 VPP: 100 VPN: 94,7 Kappa: 0,93 AUC: 99,5	A CI é tão confiável quanto a dosagem de cloretos no suor para diagnosticar ou excluir a FC, sugerindo que o teste pode ser usado tanto como triagem como diagnóstico.
Mattar, 2014, Brasil	Prospectivo	738	1,5 ano a 18 anos	Comparar valores de cloreto obtidos por iontoforese por pilocarpina com valores de condutividade iônica coletados com o sistema Macroduct®.	S: 83,3 E: 99,7 VPP: 90,9 VPN: 99,4 Kappa: 0,93 AUC: 100	CI apresenta elevada precisão diagnóstica e boa concordância com o cloreto do suor. Estudo sugere utilização da CI no diagnóstico da FC em um futuro próximo.
Domingos, 2015, Brasil	Prospectivo	534	Até 28 dias	Comparar os níveis de cloro no suor pela coulometria com os da condutividade em recém-nascidos	S: 100 E: 96,2 VPP: 83,3 VPN: 100 Kappa: 0,89 AUC: 100	A CI apresentou excelente correlação com a coulometria, com elevados valores para sensibilidade e especificidade.

S, sensibilidade; E, especificidade; VPP, valor preditivo positivo; VPN, valor preditivo negativo; AUC, área sobre a curva; CI, condutividade iônica; GCT, Gibson e Cooke; FC, fibrose cística.

#### Avaliação dos estudos

Todos os estudos foram prospectivos e tiveram amostra variando entre 102 e 3834 pacientes. A faixa etária variou de 12 dias a 54 anos.

Globalmente, os estudos analisados demonstraram valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN respectivamente 83,3% a 100%, 96,2% a 100%, 83,3% a 100% e 94,7% a 100%. O valor do coeficiente de Kappa variou de 0,89 a 1,0.

O trabalho com maior número de pacientes até então publicado incluiu 3.834 participantes, sendo que a idade variou de entre um mês e 54 anos, com mediana de 1,8 anos.<sup>2</sup>

Cinco dos seis estudos analisados forneceram dados suficientes que possibilitaram construir uma tabela 2 x 2 com o consolidado das populações e dos resultados neles encontrados, conforme tabela 2.

Tabela 2- Distribuição dos resultados entre cloridrometria e a condutividade iônica em cinco<sup>1</sup> dos seis estudos<sup>2</sup>

		Cloridrometria		
		Positiva N (%)	Negativa N (%)	Total N (%)
Condutividade iônica	Positiva	548 (99,3)	19 (0,4)	567 (10,4)
	Negativa	4 (0,7)	4899 (99,6)	4903 (89,6)
	Total	552 (100)	4918 (100)	5470 (100)

<sup>1</sup>Mastella, Lezana, Domingos, Mattar (2010 e 2014); <sup>2</sup> quando o valor de qualquer casela tenha sido zero em algum dos cinco estudos ele foi substituído pela unidade para evitar divisão por zero.

Após os devidos cálculos, a CI apresentou sensibilidade de 99,2% (IC 95% 98,1%-99,8%), especificidade de 99,6% (IC 95%, 99,4%-99,7%), VPP de 96,6% (IC 95%, 94,8%-97,8%), VPN de 99,9% (IC 95%, 99,7%-100%), acurácia de 99,5% (IC95%, 99,3%-99,7%). Além disso, as razões de verossimilhança positiva e negativa foram de 256,9 (IC 95%, 164,0-402,5) e 0,01 (IC 95%, 0,0-0,02), respectivamente. O coeficiente kappa foi de 0,98 (IC95%, 0,97-0,99).

Não foi possível extrair os dados de um dos artigos, Cinel e cols<sup>11</sup>, porém os autores demonstraram em seus resultados valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN de 92,9%, 100%, 100%, 94,7% respectivamente, além de coeficiente de Kappa de 0,93. Observa-se, portanto, que esses os valores se encontram dentro da amplitude de variação dos IC 95% conforme mencionado acima.

## Discussão

A presente revisão teve como objetivo avaliar a acurácia da condutividade iônica como método diagnóstico de fibrose cística.

Extraíndo-se os dados de cinco dos seis estudos apresentados, foi possível avaliar a distribuição dos resultados entre cloridrometria e a condutividade iônica, totalizando 5470 pacientes.<sup>2,8,12-13,16</sup> Foi observado que o resultado global correspondeu à acurácia encontrada nos trabalhos individualmente.

Além disso, os resultados apresentados na Tabela 2, revelam que as propriedades dos testes apresentam, além dos valores elevados, uma estreita amplitude de variação dos intervalos de confiança 95% em todos os parâmetros, principalmente nas razões de verossimilhança, o que sugere fortemente que a CI se comporta como teste diagnóstico e não de triagem.

Um teste diagnóstico (padrão-ouro), visa fornecer uma informação confiável a respeito da condição clínica do paciente, influenciando diretamente a decisão do médico a respeito do paciente. Ele deve apresentar elevados valores de sensibilidade e especificidade (medidas de desempenho do teste),<sup>21</sup> de VPP e VPN (úteis na parte de decisão clínica),<sup>22</sup> e de razões de verossimilhança (razão entre a probabilidade do resultado do teste -positivo ou negativo- entre aqueles com a condição, ou seja, indica a magnitude da evidência de que o resultado do teste fornece em favor da presença da condição em relação à ausência).<sup>23</sup>

A tabela 2 evidenciou a RV positiva de 256,9 e a RV negativa de 0,01, porém, na revisão, apenas um artigo apresentou os valores das razões de verossimilhança.<sup>16</sup> A RV positiva encontrada indica que a probabilidade de um resultado positivo na CI corresponder ao resultado positivo da cloridrometria (ou seja, diagnóstico de fibrose cística) é 256,9 vezes superior à probabilidade de que um resultado positivo na CI corresponda a um resultado negativo da cloridrometria. Já o valor da RV negativa expressa que a probabilidade de um resultado negativo na CI ocorrer diante de uma cloridrometria positiva é nula, uma vez que o valor da LR negativa foi praticamente zero. Assim, é aceitável dizer que a margem de erro da CI é quase inexistente, quando comparada com a cloridrometria.

Um outro aspecto a ser analisado nos artigos quando se compara um teste com o padrão-ouro, é a curva ROC, que revela maior precisão quando a área sob ela apresenta valores superiores a 0,8, com elevado poder discriminatório do teste diagnóstico em

estudo.<sup>23</sup> Quatro dos seis estudos avaliados apresentaram os valores da área sobre a curva, sendo os valores encontrados extremamente elevados (99,5 a 100%).<sup>8,11,13,16</sup>

Os dados apresentados mostram que a CI é sim um bom exame de triagem, porém os resultados indicam que talvez ele seja mais que isso, levando-o a se aproximar de um teste diagnóstico, como aliás proposto por Mattar.<sup>13</sup> A autora sugeriu a adoção da CI em serviços que não possuem laboratórios treinados e profissionais capacitados, devido à facilidade na execução, precisão, acurácia, além da rapidez de liberação dos resultados.<sup>1</sup>

Observou-se homogeneidade em relação a alguns aspectos metodológicos como por exemplo, a natureza prospectiva dos estudos, porém vale ressaltar que apenas um artigo estudou a amostra exclusivamente pediátrica, incluindo lactentes jovens com menos de 3 meses de vida, faixa etária que compreende o público alvo da triagem neonatal.<sup>16</sup> A quase totalidade das publicações incluiu uma faixa etária heterogênea, do nascimento aos 54 anos,<sup>2,8,11-13,16</sup> demonstrando a dificuldade de se ter comparações dos resultados em estudos cujas idades foram inferiores a três meses de vida.

Apesar dessas pequenas diferenças metodológicas, os estudos mostram que a CI apresenta excelente acurácia quando comparada à cloridrometria para diagnóstico ou exclusão de FC, com ótimos índices de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, além das razões de verossimilhança.

## **Conclusão**

Embora haja recomendação para que o diagnóstico de FC seja realizado por cloridrometria, os estudos comprovaram a elevada acurácia e, portanto, a utilidade clínica da condutividade iônica, certamente como exame de triagem para FC e, dependendo da confirmação desses resultados em futuros estudos, com potencial para ser adotado como teste diagnóstico para esta enfermidade.

Entretanto, para atingir o patamar de teste diagnóstico confirmatório mais estudos são necessários. Estes estudos, preferencialmente deveriam recrutar recém-nascidos e lactentes jovens, população alvo da triagem neonatal, que se beneficiam com o diagnóstico precoce da doença. Também seria importante um estudo com uma amostra suficiente de participantes, de modo a assegurar elevado poder, ou seja, aumentar a probabilidade de se obter um resultado estatisticamente significativo. Isso permitiria a descentralização do diagnóstico, além de redução de custos e redução das chances de resultados equivocados, pela menor complexidade do método.

## Referências

1. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*. 1959;23:545–9.
2. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros*. 2003;2:1–7.
3. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr*. 2007;151:85–9.
4. Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1994;124:255–60.
5. Wescor. Macroduct sweat collection system and sweat chek conductivity analyser product sheet. 2004;1:1–72. Available from: <https://www.wescor.com/translations/Translations/M2672-2A.pdf>
6. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Sweat test clinical care guidelines. *J Pediatr*. 2007;151:85–9.
7. Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2000;82:420–4.
8. Mattar ACV, Leone C, Rodrigues JC, Adde FV. Sweat conductivity: An accurate diagnostic test for cystic fibrosis? *J Cyst Fibros*. 2014;13:528–33.
9. Mastella G. Sweat testing: can the conductivity analysis take the place of the classic Gibson and Cooke technique? 2010;86:89–91.
10. Wescor. Sweat Check - Sweat Conductivity Analyzer. 2005; Available from: <http://www.wescor.com/biomedical/html/sweat-check.html>
11. Cinel G, Dođru D, Yalçın E, Özçelik U, Gürcan N, Kiper N. Sweat conductivity test: Can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? *Turk J Pediatr*. 2012;54:576–82.
12. Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reliability of sweat-testing by the Macroduct® collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr Int J*

- Paediatr. 2000;89:933–7.
13. Mattar ACV, Gomes EN, Adde F V., Leone C, Rodrigues JC. Comparison between classic Gibson and Cooke technique and sweat conductivity test in patients with and without cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2010;86:109–14.
  14. Sands D, Oltarzewski M, Nowakowska A, Zybert K. Bilateral sweat tests with two different methods as a part of cystic fibrosis newborn screening protocol and additional quality control. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010;48:358–65.
  15. Katherisan N, Gupta A, Mumford S, Cade A, Jones R. Sweat conductivity for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2004;3:205.
  16. Domingos MT, Magdalena NIR, Cat MNL, Watanabe AM, Rosário Filho NA. Sweat conductivity and coulometric quantitative test in neonatal cystic fibrosis screening. *J Pediatr.* 2015;91:590–5.
  17. Wayne PNC for CLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing. Sample collection and quantitative analysis; approved guideline. *Clin Lab Stand Inst.* 2009;29:1–49.
  18. Siqueira AR, Tibúrcio JD. Estatística na área da saúde: conceitos, metodologia, aplicações e prática computacional. Belo Horizonte: Coopmed; 2011,p.139-189.
  19. Page MJ, Mckenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann C, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews Systematic reviews and Meta-Analyses. *BMJ.* 2021;372:1–9.
  20. Galvão TF, Pereira MG. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. *Epidemiol e Serviços Saúde.* 2014;23:183–4.
  21. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 1. *J Bras Pneumol.* 2017;43:330.
  22. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 2. *J Bras Pneumol.* 2018;44:4.
  23. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 3. *J Bras Pneumol.* 2018;44:4.

### 3- OBJETIVO

#### 3.1 – Objetivo geral

Verificar a acurácia da condutividade iônica do suor como método diagnóstico de fibrose cística.

#### 3.2 – Objetivos específicos

Verificar a concordância entre dois testes concomitantes de condutividade iônica em recém-nascidos e lactentes jovens.

Verificar os preditores para a obtenção de volume insuficiente de suor para condutividade iônica.

Verificar os preditores para a obtenção de peso insuficiente de suor para cloridrometria.

Comparar os resultados dos testes de suor obtidos por cloridrometria e condutividade iônica, para avaliar a acurácia geral, sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos, razões de verossimilhança da condutividade iônica em relação a cloridrometria, coeficiente Kappa e curvas *Receiver Operator Characteristic* (ROC)

## 4- MÉTODOS

### *Delineamento, população a ser estudada, local do estudo*

Trata-se de um estudo prospectivo realizado entre os meses de abril de 2013 a outubro de 2020, no NUPAD.

### *Crítérios de inclusão e exclusão*

Foram incluídos recém-nascidos e lactentes com idade inferior a 3 meses de vida, encaminhados ao laboratório para realização do teste do suor devido a dois resultados alterados de tripsinogênio imunorreativo (TIR), ou seja, valor superior a 70ng/ml.

Foram excluídos pacientes com lesões de pele (como dermatite atópica e eczema) no momento do exame, pacientes com instabilidade clínica ou com quantidade insuficiente de suor. Os critérios para classificar quantidade insuficiente de suor foram baseados na recomendação da *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF), como sendo peso do suor inferior a 75 mg quando a coleta se deu pela técnica de Gibson-Cooke ou volume de suor inferior a 15 µL após indução pelo sistema Macroduct<sup>®</sup>.<sup>1</sup>

A opção de incluir apenas lactentes com idade igual ou inferior a 90 dias de vida se baseou no fato de tal grupo ser a população-alvo da triagem neonatal. Já a exclusão crianças instáveis se baseou nas diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) na qual lactentes e crianças podem ter elevação de eletrólitos no suor em algumas situações, tais como, desidratação, uso de fludrocortisona sistêmica, edema, desnutrição. Além disso, elas preveem que seja evitada a estimulação do suor de áreas de inflamação difusa, secreção serosa ou com sangue.<sup>2</sup>

### *Descrição dos métodos laboratoriais*

#### Etapa 1: Coleta da amostra

##### Coleta por Gibson e Cooke

Foi realizada a limpeza do antebraço do paciente com água destilada e secagem com gaze. Posteriormente, foi realizada a estimulação da sudorese através da colocação de eletrodos de cobre de 2,5 X 2,5 cm fixados na pele por meio de presilhas, sobre gazes embebidas em solução de nitrato de pilocarpina 0,5% (eletrodo positivo) e ácido sulfúrico 0,004N (eletrodo negativo).

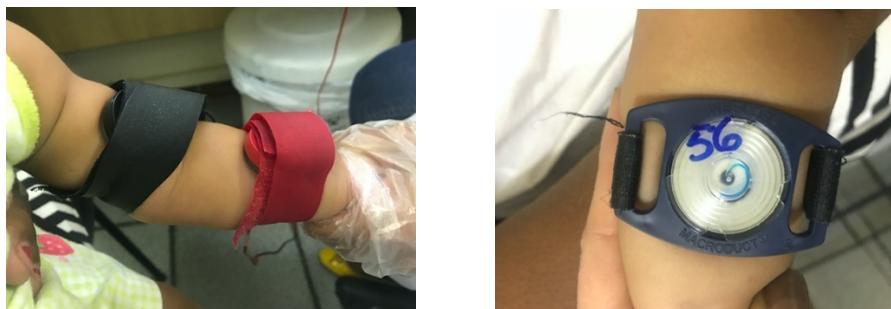
Em seguida foi aplicada uma corrente de 2 a 5 mA (miliamperes) durante cinco minutos, para estimulação da iontoforese por pilocarpina, com posterior retirada dos eletrodos e nova limpeza da pele com água destilada e secagem com gaze. Após, foi colocado uma gaze de 4 cm de diâmetro, previamente pesada, para iniciar a coleta do suor por um período de 30 minutos. Após esse tempo, a gaze foi retirada com pinça e pesada em balança analítica, para averiguação do peso do suor. Após pesagem, a gaze foi colocada em recipiente fechado e encaminhada para análise laboratorial, conforme imagens abaixo.



#### Coleta por Macroduct®

Inicialmente foi realizada a limpeza da pele do antebraço do paciente com água destilada e secagem com gaze. Em seguida foram colocados eletrodos com discos de gel de pilocarpina (Pilogel®), em área do antebraço do paciente para estimulação de iontoforese a fim de estimular a sudorese pela passagem de uma corrente elétrica durante um período de 5 minutos (amperagem durante o procedimento inferior a 3 milamperes, mA). Após o processo, a pele foi limpa e para receber o coletor Macroduct® por meio de faixas tipo pulseira. O coletor Macroduct® é um disco côncavo concêntrico de material plástico com um orifício central, e era descartado após cada exame. O suor produzido após estimulação pela pilocarpina era facilmente visualizado por um corante azul hidrossolúvel, que não interfere no resultado final da condutividade, conforme imagens abaixo.

O tempo de coleta do suor foi o mesmo da cloridrometria, isso é, de 30 minutos.



## Etapa 2: Análise do suor

### Análise por Cloridrometria

Inicialmente a máquina foi calibrada com as soluções de controle (cloreto de 10mmol/L, 50mmol/L e 100mmol/L). Depois fez-se uma mistura com 3ml da solução ácida, 1 ml da solução da amostra (gaze com suor com água) e 4 gotas de gelatina, que corou a solução em rosa. Essa solução foi colocada no cloridrômetro, em contato com uma prata. Essa mistura gerou uma reação que permitiu a leitura da dosagem de cloreto no suor, conforme imagens abaixo.



A concentração de cloro foi obtida com cloridrômetro digital (Digital Chloridometer®, Labconco, Texas, EUA).

Os valores de referência considerados foram os adotados pela CFF: normal (abaixo de 30 mmol/L); limítrofe (entre 30 e 59 mmol/L) e positivo (igual ou superior a 60 mmol/L).<sup>1,5</sup>

### Análise por condutividade iônica do suor

A tampa protetora transparente do sistema Macroduct® foi removida para inserção de uma agulha romba com seringa a fim de desenrolar todo o tubo e cortá-lo o mais próximo da superfície do coletor. Foi realizada uma aspiração com cautela do suor com corante para que não houvesse perda na extremidade do corte. O tubo foi conectado ao aparelho Sweat Check™ Analyzer, sendo realizada uma leve pressão no êmbolo da seringa para que a amostra de suor entrasse em contato com o aparelho, conforme imagens abaixo.



O suor foi analisado pelo analisador Sweat-Chek®, modelo 3120, Wescor Inc., EUA. Essa máquina é capaz de fornecer o valor da condutividade iônica da amostra instantaneamente (em mmol/L) em amostras coletadas por Macroduct®. Ar e água destilada foram injetados através da célula entre todas as determinações de cada amostra de suor para remover qualquer vestígio de suor. Calibrações do analisador Sweat-Chek®, modelo 3120, Wescor Inc., EUA foram realizadas diariamente, seguindo as orientações do fabricante.<sup>3,4</sup>

Os valores de referência adotados pelo método da condutividade iônica foram os recomendados pelo fabricante (analisador Sweat-Chek®, modelo 3120, Wescor Inc., EUA): normal (abaixo de 60 mmol/L); limítrofe (entre 60 e 79 mmol/L) e positivo (igual ou superior a 80 mmol/L).<sup>3,6</sup>

Vale lembrar que o valor de condutividade iônica tem um valor em torno de 15 mmol/L maior do que o da cloridrometria, devido a presença de outros componentes (íon potássio, bicarbonato e lactato), embora o cloreto de sódio seja o componente primário.<sup>6,7</sup>

### *Aspectos estatísticos*

#### *Tamanho amostral*

Foram incluídos na amostra do estudo, todos os recém-nascidos e lactentes jovens que obedecessem preenchessem os critérios de inclusão supracitados e o tamanho da amostra variou de acordo com cada objetivo específico.

#### *Análise*

A análise dos dados foi realizada com o software SPSS, versão 23.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

Na análise descritiva foram empregados os cálculos das médias (e respectivos desvios-padrões), medianas, valores interquartis, teste de Wilcoxon.

Foi analisada a correlação entre dois ensaios de condutividade iônica utilizando a correlação de Spearman e o índice de concordância Kappa.

Através de análise uni e multivariada (regressão logística) foram avaliados os preditores associados à obtenção de volume ( $\geq 15 \mu\text{L}$ ) e peso ( $\geq 75 \text{ mg}$ ) mínimos ('taxa de sucesso') de suor para cada um dos dois métodos laboratoriais em estudo.

Tomando como base a cloridrometria, considerada como padrão-ouro, foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos (positivo e negativo), curva ROC, acurácia e as razões de verossimilhança (positivo e negativo) da condutividade iônica.

#### *Aspectos éticos*

O protocolo de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número CAAE 21958014.1.0000.5149.

#### Referências

1. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr.* 2008;153:S4–14.
2. Gomez CCS, Marson FAL, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro MÂGO, Gama VAL, et al. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis. *BMC Pulm Med.* 2018;18:1–16.
3. Wescor. Macroduct sweat collection system and sweat chek conductivity analyser product sheet. 2004;1:1–72. Available from: <https://www.wescor.com/translations/Translations/M2672-2A.pdf>
4. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr.* 2007;151:85–9.
5. Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017;18:S4–15.
6. Wescor. Sweat Check - Sweat Conductivity Analyzer. 2005; Available from:

<http://www.wescor.com/biomedical/html/sweat-check.html>

7. Mattar ACV, Leone C, Rodrigues JC, Adde FV. Sweat conductivity: An accurate diagnostic test for cystic fibrosis? *J Cyst Fibros*. 2014;13:528–33.

## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Artigo 2

#### **Agreement between two simultaneous sweat conductivity assays in newborns and young infants**

Texto formatado segundo as normas de publicação do periódico “Pediatric Pulmonology”, no formato “LETTER TO THE EDITOR”.

## **Agreement between two simultaneous sweat conductivity assays in newborns and young infants**

### **ABSTRACT**

**Objectives:** Sweat conductivity (SC) is widely used as a screening test for cystic fibrosis (CF), but the agreement between two simultaneous assays has not been reported so far. The present study aimed to assess the agreement between two concomitant SC assays.

**Methods:** We prospectively recruited three hundred twenty infants younger than 3 months. They underwent two concomitant SC tests, on the same day and laboratory, performed by the same technician. All steps followed the manufacturer's recommendations, including the minimum required amount of sweat sample (15  $\mu$ L). In addition to descriptive statistics, the analysis included Kappa index and Spearman's  $r_s$ .

**Results:** 59% of the participants were younger than 60 days, being 11.2% of newborns. Spearman's coefficient and Kappa index were 0.83 (95% CI, 0.78-0.86,  $P < 0.001$ ) and 1.0, respectively.

**Conclusion:** Results showed excellent agreement, reassuring the role of SC as a reliable screening test for CF.

Key words: Cystic Fibrosis, sweat conductivity, screening test.

Sweat conductivity (SC) is a semi-automated and a fast method, that doesn't require skilled technicians or specialized personnel.<sup>1,2</sup> It is well-established screening test for Cystic Fibrosis (CF).<sup>1,2</sup> As only a small amount of sweat is required, it is suitable for newborns and young infants.<sup>1</sup> Those characteristics make SC a suitable alternative for small-medium laboratories, markedly those located in low-middle income countries. Nonetheless, SC should be assessed and tested to ensure that its reliability and reproducibility for the intended purpose. As for any lab test, an agreement between simultaneous assays is one of these vital requirements that has not been reported so far. There are no studies evaluating specifically that requirement in different ages, including newborns and young infants, the newborn screening targeted the age-group. Therefore, the present study aimed to assess the agreement between two concomitant SC assays.

Newborns and young infants were prospectively recruited. As participants of a Statewide newborn screening program, they had two previous positive immunoreactive trypsinogen results, and then, two concomitant SC assays, performed by the same technician, in the same day, and laboratory. Parents or legal guardians agreed and signed the informed consent. The research protocol and informed consent were approved by the Institutional Review Board of the Federal University of Minas Gerais (#CAAE 21958014.1.0000.5149).

Sweat samples for the two SC tests were obtained simultaneously from each forearm of each patient, through the Wescor Macroduct System<sup>®</sup> and then, assessed with a SC analyzer (Sweat-Chek Analyzer<sup>®</sup>, model 3120, Wescor Inc., USA). All steps were performed according to the manufacturer's recommendations and described elsewhere, including the minimum required amount of sweat sample, i.e., 15  $\mu$ L, collected during 30 minutes. Inclusion criteria were clinically stable infants, aged less than 3 months, weighing 2.500g or more on the day of the exam. Individuals that did not fulfill these requirements were excluded.

In addition to descriptive statistics, to analyze the correlation between the two SC assays we used Kappa interassay agreement and Spearman's rank test. For Kappa calculation, were categorized results into three groups, as follows, negative, borderline, and positive, depending on the obtained values, i.e., under 60 mmol/L, 60-80 mmol/L, and above 80 mmol/L, respectively.<sup>2,3</sup> SPSS software, version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) was used for statistical analyses.

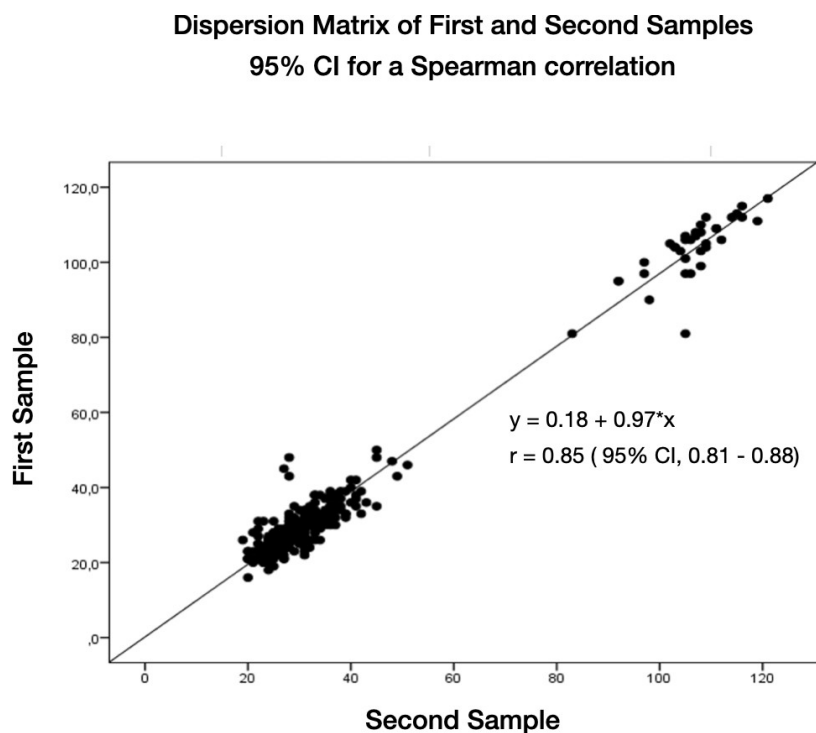
A total of 320 young infants were recruited, and the data presented herein include all obtained results. There was a predominance of boys (56.2%), and the majority of the

participants (59%) were younger than 60 days, being 11.2% of them newborns. Mean and median ages were 52 (SD 20.6) and 46 (range, 19-89) days, respectively.

A sufficient pre-defined amount of sweat was obtained from all participants. Means (SD) and medians (range) for the first and second SC values were 37.0 mmol/L (SD 24.11) and 29 mmol/L (range, 16.0-117.0), and 38.1 mmol/L (SD 24.6), and 30 mmol/L (range, 19.0-121.0), respectively. Though the difference between medians was just 1.0 mmol/L (29.0 mmol/L - 30.0 mmol/L), due to discrepancies observed among the 640 assays, the Wilcoxon-test revealed statistical significance ( $p < 0.001$ ). Accordingly, the coefficient of variation for the first and second SC was 65.0% and 64.5%, respectively.

Kappa value was 1.0 (Standard Error = 0.00), with no mismatch between each of the two conductivity tests, showing a perfect agreement between values obtained in both assays.

Figure 1 displays the Spearman's correlation scatter plot.



**FIGURE 1:** Spearman correlation of results of the two concomitant sweat conductivity tests from the 320 patients.

The linear regression plot indicates a distribution with two groups of results, i.e., lower, and higher than 60 mmol/L and 80 mmol/L, respectively, with no intermediate values. A strong, statistically significant correlation ( $r_s = 0.83$ ;  $P < 0.001$ ) between the

two concomitant assays was found; moreover, the difference between the 95% CI lower and upper limits was only 0.08, showing the high statistical precision, with low dispersion of values.

As shown, there were four main outlier pairs, three of them below 60 mmol/L and one above 80 mmol/L, corresponding to 1.2% of patients. Among them, SC results for the first and second assays were, 43 mmol/L and 28 mmol/L, 43 mmol/L and 27 mmol/L, 48 mmol/L and 28 mmol/L, and 81 mmol/L and 105 mmol/L, respectively.

Outliers can occur by chance in any linear comparison. Accordingly, outlier values were either lower than 60 mmol/L (i.e., normal range) or higher than 80 mmol/L (i.e., abnormal one), with no intermediate values, similar to results obtained by Barben and cols, and Hall & Lapworth among 94 and 155 subjects, respectively.<sup>4,5</sup> As pediatricians, pediatric pulmonologists, and biochemists are mainly looking for lab exams that rule in or rule out a given diagnosis, the correlation pattern between SC assays suggests an optimal agreement between them.

Although SC is used worldwide, to the best of our knowledge there is no previously published study aimed at assessing between-assay agreement, regardless of the age group. Unfortunately, the unavailability of previous publications hinders direct comparisons with our results.

In conclusion, the results add original evidence and indicate that newborns and infants with presumptive CF identified through SC assays should perform sweat chloride testing in a reference center as soon as possible. Moreover, the perfect intraindividual intraassay agreement allows us to hypothesize that a correspondent interindividual one might be expected in clinical practice. However, to confirm this hypothesis this issue should be investigated in further studies.

**REFERENCES**

1. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros.* 2003;2(1):1–7.
2. Mattar ACV, Leone C, Rodrigues JC, Adde FV. Sweat conductivity: An accurate diagnostic test for cystic fibrosis? *J Cyst Fibros.* 2014;13(5):528–33.
3. Cinel G, Doğru D, Yalçın E, Özçelik U, Gürcan N, Kiper N. Sweat conductivity test: Can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? *Turk J Pediatr.* 2012;54(6):576–82.
4. Barben J, Ammann RA, Metlagel A SM. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2005;146(2):183–8.
5. Hall E, Lapworth R. Use of sweat conductivity measurements. *Ann Clin Biochem.* 2010;47(4):390–1.

Artigo 3

**Rate and predictors for the quantity not sufficient of sweat collection for the determination of sweat conductivity in newborns and young infants**

Texto formatado segundo as normas de publicação do periódico *Pediatric Pulmonology*, no formato “LETTER TO THE EDITOR”.

## **Rate and predictors for the quantity not sufficient of sweat collection for the determination of sweat conductivity in newborns and young infants**

### ABSTRACT

**Objective:** To verify the rate and factors related to QNS for the determination of sweat conductivity in newborns and very young infants.

**Methods:** Clinically stable newborns and infants younger than three months that had sweat conductivity determined after two abnormal immunoreactive trypsinogen results, were recruited prospectively. Statistical analysis included descriptive statistics and a four-step analysis, including missing data imputation, ROC curves, univariate, and multivariate logistic regression.

**Results:** A total of 1,020 subjects were enrolled. Among them, the rate of QNS was 8.9%. Subjects with a gestational age under 37 weeks and those with a weight under 3,845 grams on the day of sweat collection had 5.8 and 5.3 times greater risk, respectively, to produce an insufficient quantity of sweat than those older and heavier.

**Conclusion:** Our results suggest that the obtained QNS rates successfully fulfill the Cystic Fibrosis Foundation standards even in a low prevalence, resource-limited setting. Ideally, SC (or even coulometry) should be scheduled as early as possible, after the infant reaches 37 weeks and 3,845 g.

**KEY WORDS:** cystic fibrosis, sweat conductivity, quantity not sufficient, rate, predictors.

Sweat conductivity (SC) is a semi-automated method that does not require specially trained technicians.<sup>1</sup> Sweat stimulation, collection, and analysis could be performed through Pilogel<sup>®</sup> discs, Macroduct<sup>®</sup> coils, and Sweat-Chek analyser<sup>®</sup> (Wescor Inc., USA), which allow direct reading of the results with a small amount of sweat.<sup>1</sup> These characteristics are suitable for low prevalence, low-middle income settings with few Cystic Fibrosis (CF) reference centers where, usually, classical coulometry is available.

For SC assays, the Cystic Fibrosis Foundation (CFF) defines quantity not sufficient (QNS) as a volume lower than 15 µl of sweat collected during 30 minutes,<sup>2,3</sup> and accepts a QNS rate lower than 10% in infants younger than three months.<sup>4,5</sup> Higher rates can reveal problems in sweat collection but also subject characteristics, in which case another collection is required soon.<sup>2</sup>

Our literature review found no study on the rates and predictors of QNS in newborns and young infants whose sweat samples were collected by the Macroduct<sup>®</sup> system and subsequently analyzed for ionic conductivity. Among the published studies, the majority were conducted in high-income countries, and few of them analyzed rates and predictors simultaneously and prospectively. In that studies Gibson & Cooke or the same Macroduct<sup>®</sup> method had been employed before coulometry, with authors reporting QNS rates ranging from 2.1%<sup>6</sup> to 86.0%.<sup>7</sup> The main predictors of QNS were parameters such as prematurity, low birth weight, and weight under 3 Kg.<sup>3,7,8</sup>

Therefore, the present study aimed to verify the rate and predictors of insufficient sweat production for the determination of sweat conductivity in screen positive Brazilian neonates and infants younger than three months.

We prospectively recruited 1,020 clinically stable subjects identified by the statewide newborn screening program through two previous positive immunoreactive trypsinogen results. Our CF center comprises basically two branches: the single qualified statewide Newborn Screening and Genetic Diagnosis Laboratory—responsible for newborn screening for CF and other diseases, conductivity, coulometry and other CF-related lab exams—and the CF Clinic (outpatient and ward sectors) of the Federal University of Minas Gerais University Hospital, located in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil.

Sweat samples were collected and analyzed according to the manufacturer's recommendations using the Macroduct system<sup>®</sup> and then, Sweat-Chek analyzer<sup>®</sup> (Wescor Inc., USA).<sup>1</sup>

Apart from descriptive statistics, to achieve the multivariate modeling, analysis comprised a four-step strategy, as follows: missing data imputation (because up to 5% of the data were not recorded); cut point definitions from ROC curves for each explanatory variables versus sweat conductivity results; univariate and multivariate analysis, in which all co-variables with a p-value lower than 0.20 in the univariate step were included in the adjustment process of the backward logistic regression.

According to ROC curves results, explanatory variables were dichotomized to analyze their potential role as predictors of QNS: gender, gestational age (< 37 weeks or  $\geq$  37 weeks), birthweight (< 2,735 g or  $\geq$  2,735 g), weight (< 3,845 or  $\geq$  3,845 g) and age (< 41 or  $\geq$  41 days) on the day of sweat collection, and daily weight gain from birth to the date of sweat collection (< 25g/day or  $\geq$  25g/day).

Statistical analysis refers only to the first participant appointment. Analyses were performed through SPSS software, version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). The research protocol and informed consent were approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Minas Gerais, under number CAAE 21958014.1.0000.5149.

Considering that 1) the number of newborns and young infants were 1,300; 2) the estimated prevalence for QNS rate was 8%; 3) assuming an error of  $\pm 2\%$  for 95% CI; it would be necessary a minimum of 459 patients.

Table 1 displays the sociodemographic, clinical characteristics of the participants, and the univariate analysis.

TABLE 1. Descriptive characteristics of participants, and univariate analysis for quantity not sufficient (lower than 15  $\mu$ l) of sweat volume (N=1,020).

Characteristics	QNS		OR	95% CI	p-value
	Yes N (%)	No N (%)			
QNS	91 (8.9)	929 (91.1)	NA	NA	NA
Gender			1.1 (0.7-1.7)		0.56
Female	49 (53.9)	471 (50.7)			
Male	42 (46.1)	458 (49.3)			
Birth weight (g)			7.4 (4.6-11.9)		<0.01
< 2,735	63 (69.2)	215 (23.1)			
$\geq$ 2,735	28 (30.8)	714 (76.9)			
Weight at sweat collection (g)			8.6 (5.0-14.7)		<0.01
< 3,845	73 (80.2)	297 (32.0)			
$\geq$ 3,845	18 (19.8)	632(68.0)			
Daily weight gain (g)			3.2 (2.0-5.2)		<0.01
< 25	64 (70.3)	389 (41.9)			
$\geq$ 25	27 (29.7)	540 (58.1)			
Gestational age (weeks)			10.0 (6.3-15.8)		<0.01
< 37	51 (56.0)	105 (11.3)			
$\geq$ 37	40 (44.0)	824 (88.7)			
Age at sweat collection (days)			0.6 (0.4-1.0)		0.05
< 41	33 (36.3)	436 (46.9)			
$\geq$ 41	58 (63.7)	493 (53.1)			

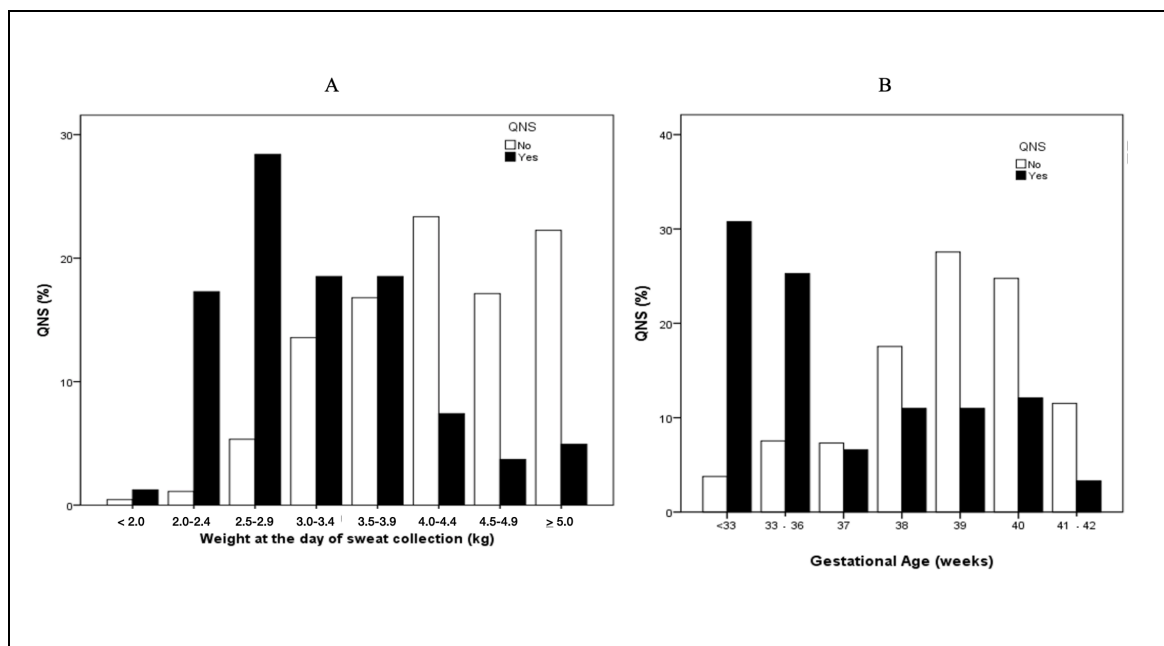
QNS: quantity not sufficient; NA: not applicable.

Gender distribution was well balanced (females, 50.9%), and the majority had gestational age  $\geq$  37 weeks (84.7%), birthweight  $\geq$  2,735 g (72.7%), weight on the day of sweat collection  $\geq$  3,845 g (63.7%), daily weight gain  $\geq$  25 g (55.5%), and  $\geq$  41 days of life at sweat stimulation (54.0%). On the day of sweat collection, the mean and median age were respectively 48 days (SD 47.3-49.7) and 43 days (range 15-90 days) of life; among them 150 (14.7%) were newborns, and a rate of 8.9% of QNS was found (91 out of 1020 infants). Some days later, after new collection, confirmatory coulometry was positive in 5 of them (5.6%).

The final model of the multivariate analysis showed that patients born with a gestational age of less than 37 weeks and those weighing less than 3,845 grams on the day of sweat collection, had 5.8 (95% CI: 3.6 to 9.5;  $p < 0.001$ ), and 5.3 (95% CI, 3.0 to 9.3,  $p < 0.001$ ) greater times of having QNS, than those born with 37 weeks or more, and with weight on the day of sweat collection equal to or greater than 3,845 grams, respectively. Even though the odds ratio for birthweight was 7.4 in the univariate analysis (see Table 1), it lost statistical significance ( $p=0.074$ ) in the last step of the multivariate model. The final model is well adjusted (Hosmer-Lemeshow test showed  $p$ -value = 0.947).

Figure 1 depicts the QNS rate across (A) weight on the day of sweat collection and (B) gestational age for all participants.

Fig. 1. QNS rate across weight at the day of sweat collection (A) and gestational age (B) in all participants.



As with multivariate analysis, bar diagrams show that the lower both, gestational age and weight on the day of sweat collection, the higher the QNS rate.

Our study has some new insights. Apart from its prospective design, we enrolled the largest sample size among single-centered-based studies, and it was the first study conducted in a lower prevalence limited-resource setting. Three other peculiarities in our work were: 1) an original four-step statistical analysis strategy, not used in published

studies on QNS so far; 2) compliance with the CFF and other international standards for the obtained QNS rate in a resource-limited low prevalence setting; and, finally, 3) suggestion of a new cut-point for the weight children should attain on the day of the sweat collection to minimize QNS rate.

Published works on QNS enrolling only young infants differ on study design (retrospective<sup>3,6,8,9</sup> or prospective<sup>7</sup>), single<sup>3,6-8</sup> or multicenter-based<sup>9</sup>, sample size, and predictors.<sup>3,6-9</sup> The number of infants recruited was lower than 600<sup>3,6-8</sup> in most studies, except for the remarkable McColley et al. study that, retrospectively, included 3,705 infants from 39 US-based institutions. Their findings reveal QNS rates ranging from just 2.1%,<sup>6</sup> to 86%,<sup>7</sup> and, overall, the main predictors point in the same direction to those obtained by us, i.e., prematurity, low birth weight, weight under 3 Kg on the day of sweat collection.<sup>3,7-8</sup> Although in the present study we used Macroduct<sup>®</sup> collection system to obtain sweat samples for conductivity assays, it is reasonable to state that QNS rate and predictors herein reported are also applicable when the same system is used to obtain samples for coulometry.

Having demonstrated the suitability of both the Macroduct<sup>®</sup> collection system and the sweat conductivity method, another implication of our study points to the desirable decentralization of sweat tests, which can be more widely distributed in remote regions of the state of Minas Gerais (surface area similar to France) and also in our whole country, so heterogenous in terms of socioeconomic, educational, public transportation, health care delivery, etc. Likewise, the inventory reported herein regarding QNS rate and its predictors in our CF reference center, allows us to draw recommendations about its application in non-reference hospitals and maybe in settings similar to ours, in Brazil and elsewhere.

In conclusion, it is always necessary to emphasize that early CF diagnosis is vital to reduce the burden of repeat sweat testing on families, and to allow a prompt start of treatment. Differently from CFF guidelines that recommend sweat collection through Macroduct<sup>®</sup> in children weighing 3 Kg or more, our results suggest that there is a potential for QNS if weight falls between this cut-point and 3,845 Kg. Since mothers from resource-limited families may not have the ability to accurately state the subject's gestational age, in order to minimize QNS, a weight no less than 3,845 g on the day of sweat collection might preferably be used as an objective, easier to obtain parameter to properly time the collection.

**REFERENCES**

1. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros*. 2003;2(1):1–7.
2. LeGrys VA, McColley SA, Li A FaP. The need for quality improvement in sweat testing infants following newborn screening for cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2010;157(6):1035–37.
3. 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*. 2011;46(1):23–30.
4. Abdulhamid I, Kleyn M, Langbo C, Gregoire-Bottex M, Schuen J, Shanmugasundaram K, et al. Improving the rate of sufficient sweat collected in infants referred for sweat testing in Michigan. *Glob Pediatr Health*. 2014;1(1):1–7.
5. Goldberg S, Schwartz S, Francis M, Stankiewicz H, Izbicki G, Picard E. Does sweat volume influence the sweat test result? *Arch Dis Child*. 2010;95(5):377–81.
6. Laguna TA, Lin N, Wang Q, Holme B, McNamara J, Regelman WE. Comparison of quantitative sweat chloride methods after positive newborn screen for cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(8):736–42.
7. Collins MN, Brawley CB, McCracken CE, Shankar PR, Schechter MS, Rogers BB. Risk factors for quantity not sufficient sweat collection in infants 3 months or younger. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(1):72–5.
8. Shenoy A, Spyropoulos D, Peeke K, Smith D, Cellucci M, Chidekel A. Newborn screening for cystic fibrosis: infant and laboratory factors affecting successful sweat test completion. *Int J Neonatal Screen*. 2020;7(1):1–8.
9. McColley SA, Elbert A, Wu R, Ren CL, Sontag MK, LeGrys VA. Quantity not sufficient rates and delays in sweat testing in US infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2020;55(11):3053–3056.

Artigo 4

**Frequência e preditores da coleta de quantidade insuficiente de suor para realização de cloridrometria em recém-nascidos e lactentes menores de três meses de idade**

Texto em português formatado segundo as normas de publicação do periódico *Journal of Cystic Fibrosis*, no formato “ORIGINAL ARTICLE”.

## **Frequência e preditores da coleta de quantidade insuficiente de suor para realização de cloridrometria em recém-nascidos e lactentes menores de três meses de idade**

### Resumo

**Objetivo:** A Cystic Fibrosis Foundation (CFF) define como quantidade insuficiente (QNS) de suor para a realização de cloridrometria, quando o peso da amostra é inferior a 75 mg, e, em indivíduos menores de três meses, admite uma taxa de insucesso de até 10%. O objetivo deste estudo foi verificar a taxa e os fatores associados à QNS, em lactentes brasileiros com idade inferior a três meses de vida, que foram submetidos à coleta de suor pela técnica de Gibson e Cooke para posterior análise por cloridrometria.

**Métodos:** Foram recrutados prospectivamente recém-nascidos e lactentes com idade inferior a três meses de vida, participantes de programa de triagem neonatal que tiveram dois resultados alterados de tripsinogênio imunorreativo e, em seguida, foram submetidos à coleta de suor por pelo método de Gibson e Cooke, para subsequente análise por cloridrometria. As variáveis independentes consideradas foram gênero, idade gestacional (<37 ou  $\geq$  37 semanas), peso ao nascimento (<2300g ou  $\geq$  2300g), peso (<3800g ou  $\geq$  3800g), idade (<40 ou  $\geq$  40 dias de vida) e ganho de peso diário desde o nascimento (<26 ou  $\geq$  26g/dia) até a data da coleta do suor. Além da estatística descritiva, a análise compreendeu outras quatro etapas, a saber, imputação de dados perdidos, geração de pontos de corte a partir de curvas ROC e regressões univariada e multivariada.

**Resultados:** Foram incluídas 1016 crianças, sendo a taxa de QNS de apenas 3,3% (IC 95%, 2,3%-4,6%). A média e mediana de idade foram 49 dias (DP 19,4) e 43 dias (variação interquartil de 15 a 90 dias), respectivamente. Indivíduos prematuros (OR = 5,4), com peso no dia da coleta do suor inferior a 3800g (OR = 4,0) e ganho de peso diário inferior a 26g (OR = 3,6) apresentaram risco maior de apresentarem quantidade insuficiente de suor.

**Conclusão:** A taxa de QNS para cloridrometria atendeu às exigências da CFF. Para assegurar taxa de sucesso superior a 90%, evitar atraso no diagnóstico e repetição desnecessária desse exame, a coleta de suor deve ser realizada a partir do momento em que o lactente atingir idade gestacional superior 37 semanas, peso no dia da coleta do suor superior a 3800g e ganho diário de peso entre o nascimento e a data da coleta igual ou superior a 26g/dia.

**Palavras-chave:** Fibrose cística, teste do suor, quantidade não suficiente, recém-nascidos, lactentes.

## 1. Introdução

A quantidade insuficiente de suor necessária à realização de cloridrometria refere-se à produção inferior a 75mg quando a coleta é realizada por 30 minutos. Nessa situação, uma nova amostra deve ser colhida,<sup>1-3</sup> uma vez que a concentração de cloretos pode variar quando a amostra é considerada insuficiente.<sup>4</sup> Ademais, períodos de coleta superiores a 30 minutos podem apresentar o risco de evaporação e, conseqüentemente, gerar resultados não confiáveis.<sup>4</sup> É descrito na literatura que lactentes jovens apresentam um maior risco de obtenção de quantidade insuficiente (QNS) de suor, principalmente aqueles com idade inferior a duas semanas de vida e com peso inferior a 2000g no dia da coleta.<sup>5-6</sup> Desta forma, para minimizar essa taxa de insucesso, a *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF) sugere aguardar a coleta do suor até que as crianças tenham pelo menos duas semanas de vida e 2000g.<sup>5</sup>

A CFF considera aceitável uma taxa de QNS inferior a 5% e 10% em lactentes com idade superior e inferior a três meses de vida, respectivamente.<sup>2,5-7</sup> Estudos mostram que o risco de se obter elevadas taxas de QNS reduz em laboratórios especializados de centros de referência dotados de técnicos qualificados.<sup>7</sup> Porém, o insucesso na coleta de suor pode atingir 20% em lactentes com idade inferior a 2 semanas de vida.<sup>8</sup>

A revisão da literatura revelou que até o momento, apenas três estudos conduzidos em países de alta renda e maior incidência de fibrose cística avaliaram simultaneamente a taxa de QNS e seus respectivos preditores, em lactentes menores de três meses de vida, faixa etária-alvo da triagem neonatal. Estes três estudos avaliaram um total de 1066 indivíduos e neles a taxa de QNS variou de 12 a 26%. Como preditores de QNS estes trabalhos encontraram a etnia afro-americana, o baixo peso ao exame (inferior a 2 ou 3kg) e a prematuridade.<sup>9-11</sup>

O presente estudo teve como objetivo verificar a taxa e os fatores associados à QNS, em lactentes brasileiros com idade inferior a três meses de vida, que foram submetidos à coleta de suor pela técnica de Gibson e Cooke para posterior análise por cloridrometria.

## 2. Materiais e métodos

### *Desenho do estudo, população, período de estudo e critérios de inclusão*

Entre os meses de abril de 2013 a fevereiro de 2017 foram recrutados, prospectivamente, 1016 recém-nascidos e lactentes com idade inferior a três meses de vida, participantes de programa de triagem neonatal que apresentaram dois resultados

alterados de tripsinogênio imunorreativo e, como tal, encaminhados para coleta de suor pelo método de iontoforese por pilocarpina e subsequente realização de cloridrometria. A coleta e a dosagem de cloretos foram realizadas no Centro de Referência em Triagem Neonatal e Diagnóstico Genético (NUPAD), responsável pela triagem neonatal de diversas doenças, incluindo fibrose cística (FC). Esta instituição está localizada na cidade de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, onde a incidência média de FC nos últimos cinco anos foi de 1:10.800. Os critérios de inclusão compreenderam estabilidade clínica e ausência de lesões cutâneas.

#### *Coleta da amostra de suor*

Ela se deu exclusivamente pela técnica da iontoforese por pilocarpina descrita por Gibson e Cooke, de acordo com as diretrizes preconizadas pela CFF.<sup>5</sup> As etapas de coleta incluíram indução e coleta de suor.<sup>12</sup> A concentração de cloretos foi analisada pela cloridrometria, seguindo as recomendações do fabricante (Chloridometer®, Labconco, Texas, EUA).<sup>5</sup>

#### *Análise estatística*

Além da estatística descritiva, a análise compreendeu outras quatro etapas, a saber, imputação de dados perdidos, geração dos pontos de corte para as variáveis independentes contínuas a partir de curvas ROC e regressões univariada e multivariada.

#### *Imputação dos dados não registrados ou perdidos*

Dos 1016 pacientes avaliados, cinco (0,5%) não apresentaram informações sobre o gênero, sete (0,7%) sobre o peso ao nascimento, 37 (3,6%) sobre peso atual e 42 (4,1%) não apresentaram informações sobre ganho de peso por dia; estes pacientes tiveram os dados perdidos imputados.

Para a imputação do gênero foram comparados os pesos ao nascimento entre pacientes do gênero feminino e masculino. Como os pesos se diferiam com significância estatística ( $p \leq 0,05$ ), as crianças com peso ao nascimento abaixo do ponto de corte (2300 gramas) foram definidas como do gênero feminino e acima do ponto de corte, como masculino.

O peso atual e o peso ao nascimento tiveram os dados imputados a partir da média dos pesos dos pacientes nascidos na mesma idade gestacional. Por exemplo, foram selecionados os pacientes nascidos com 38 semanas e calculada a média do peso ao

nascimento destes pacientes. Este peso médio ao nascimento foi inserido para todos os pacientes sem informação desta característica nascidos também com 38 semanas.

Já para o ganho de peso diário, os dados perdidos foram imputados a partir da variação entre o peso atual e o peso ao nascimento dividido pela idade do paciente no momento do teste.

#### Definições de pontos de corte

Essa etapa teve como objetivo encontrar o melhor valor de corte para as variáveis contínuas, a saber, peso ao nascer, peso no dia da coleta do suor e ganho de peso diário que classificaria os pacientes com ou sem QNS, a fim de fornecer um maior número de acertos nesta classificação. O melhor ponto de corte foi definido como aquele em que se obteve o maior valor para a soma da sensibilidade com a especificidade para cada um destes preditores. Para isso, foram construídas curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic*) individuais, uma de cada vez.

#### Análises univariada e multivariada

Para a análise univariada, foram realizadas comparações entre a ocorrência ou não de QNS com as variáveis explicativas por meio dos cálculos do qui-quadrado, *Odds Ratios* (OR) e respectivos intervalos de confiança 95%.

Em seguida, as variáveis que na da análise univariada apresentaram com p-valor menor que 0,20 foram inseridas no processo de ajuste do modelo multivariado de regressão logística. As características foram inseridas e retiradas até que apenas aquelas com significância estatística ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ) permanecessem no modelo final. A associação foi quantificada por meio do cálculo dos OR e intervalos de confiança. A categoria de referência recebeu o valor um. A adequação dos modelos testados foi avaliada pelo teste de Hosmer-Lemeshow.

As análises foram realizadas por meio do software SPSS, versão 23 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

#### *Aspectos éticos*

O protocolo de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número CAAE 21958014.1.0000.5149.

### 3. Resultados

Participaram do estudo um total de 1016 recém-nascidos e lactentes jovens. No grupo estudado, houve equilíbrio na distribuição por gênero, um ligeiro predomínio de lactentes com adequado ganho de peso diário, ou seja,  $\geq 26$  g/dia (52,8%). A maioria dos lactentes estudados nasceu a termo e apresentou peso de nascimento igual ou acima de 2300g. A média e mediana de idade no dia da coleta do suor foram, respectivamente, de 49 dias (DP 19,4) e 43 dias (variação de 15 a 90 dias). Ao todo, 46,1% apresentavam idade inferior a 40 dias de vida na data de coleta do suor, sendo 150 deles (14,7%), recém-nascidos.

A taxa geral de QNS observada na população estudada foi de apenas 3,3% (IC95% 2,3% a 4,6%).

A tabela 1 mostra distribuição e análise univariada dos participantes com e sem peso de suor insuficiente.

TABELA 1 –Distribuição e análise univariada dos participantes com e sem peso de suor insuficiente

Características	QNS		OR bruto (IC 95%)	Valor-p
	Sim N (%)	Não N (%)		
Gênero			1,3 (0,6-2,7)	0,38
Feminino	20 (58,8)	497 (50,6)		
Masculino	14 (41,2)	485 (49,4)		
Idade gestacional (semanas)			10,3 (5,0-21,0)	<0,01
< 37	21 (61,8)	133 (13,5)		
≥ 37	13 (38,2)	849 (86,5)		
Peso ao nascimento (g)			9,1 (4,5-18,6)	<0,01
< 2300	20 (58,8)	132 (13,4)		
≥ 2300	14 (41,2)	850 (86,6)		
Peso no dia da coleta do suor (g)			12,5 (4,8-32,7)	<0,01
< 3800	29 (85,3)	310 (31,6)		
≥ 3800	5 (14,7)	672 (68,4)		
Idade no dia da coleta do suor (dias)			0,6 (0,3-1,2)	0,20
< 40	12 (35,3)	456 (46,4)		
≥ 40	22 (64,7)	526 (53,6)		
Ganho de peso/dia do nascimento à data da coleta do suor (g/dia)			8,8 (3,1-25,3)	<0,01
< 26	30 (88,2)	450 (45,8)		
≥ 26	4 (11,8)	532 (54,2)		

Legenda: QNS: quantidade não suficiente, OR: odds ratio

Do total de 1016 lactentes jovens, 468 lactentes com idade inferior a 40 dias de vida foram incluídas, mas apenas 12 deles (2,6%) tiveram QNS de suor. Ao todo, foram 150 recém-nascidos (14,7%), dos quais apenas três (2,0%) apresentaram quantidade insuficiente de suor. Prematuros e a recém-nascidos a termo apresentaram taxas de QNS diferentes, tais como 13,6% (IC 95%, 8,6% a 20%) e 1,5% (IC 95%, 0,8% a 2,5%).

Conforme demonstrado, a idade gestacional, o peso ao nascimento, o peso no dia da coleta do suor e o ganho de peso diário, apresentaram p-valor igual ou inferior a 0,20, sendo assim incluídas na análise multivariada, conforme tabela 2.

TABELA 2 – Análise multivariada, modelo final

Característica	Coef.	Erro-padrão	Valor-p	OR	IC 95%
Idade gestacional (semanas)					
<37	1,7	0,39	<0,01	5,4	2,5-11,7
≥37				1,0	
Peso no dia da coleta do suor (g)					
< 3800	1,4	0,56	0,01	4,0	1,3-11,9
≥ 3800				1,0	
Ganho de peso (g/dia)					
< 26	1,3	0,59	0,03	3,6	1,1-11,6
≥ 26				1,0	

Hosmer-Lemeshow (valor-p igual a 0,845, superior a 0,05).

O modelo final da análise multivariada evidenciou que a idade gestacional inferior a 37 semanas, o peso no dia da coleta do suor inferior 3800g e o ganho de peso diário entre o nascimento e a data da coleta da amostra de suor inferior a 26g permaneceram como preditores de QNS na população estudada. Em relação à variável peso ao nascimento inferior a 2300g, apesar do risco de QNS ter sido demonstrado na análise univariada OR 9,1 (IC 95% 4,5-18,6, valor de  $p < 0,01$ ), ela perdeu significância estatística na última etapa do modelo multivariado.

O teste de Hosmer-Lemeshow apresentou um valor-p igual a 0,845, demonstrando que o modelo final está bem ajustado.

#### 4. Discussão

Este é o primeiro estudo conduzido em um contexto epidemiológico de baixa incidência de fibrose cística em país de baixa-média renda, que avaliou simultaneamente a taxa e os fatores associados à QNS relacionados à cloridrometria, exclusivamente em 1016 recém-nascidos e lactentes com idade inferior a três meses de vida, a faixa etária alvo da triagem neonatal.

Algumas peculiaridades do atual estudo referem-se à originalidade da análise estatística, realizada em quatro etapas como descrito na seção “Métodos”. Ademais ele está em conformidade com renomados órgãos internacionais em relação ao conceito e exigências para QNS, com achado de taxa global de 3,3%, além de sugerir pontos de corte distintos daqueles até então relatados na literatura para o peso mínimo das crianças no dia da coleta do suor (3800g) e ganho de peso diário do nascimento à data da coleta inferior a 26 g que, além da importância da prematuridade, foram os principais preditores de QNS em nossa população.

Há na literatura três estudos que avaliaram a taxa e os preditores de QNS pela cloridrometria exclusivamente em lactentes com idade inferior a 3 meses de vida, sendo que a maioria dos estudos foi realizada com delineamento retrospectivo e com menor quantidade de pacientes analisados (amostra entre 103 e 742 crianças).<sup>9-11</sup>

Os resultados do presente estudo apresentam algumas diferenças e semelhanças em relação a eles. No presente estudo a coleta de suor foi realizada exclusivamente pelo método de Gibson e Cooke (GCT). Dos três estudos descritos anteriormente, um deles realizou a coleta exclusivamente por GCT,<sup>9</sup> outro por pelo sistema Macroduct<sup>®</sup>,<sup>10</sup> e ainda um terceiro incluiu os dois métodos de coleta.<sup>11</sup>

Os autores que utilizaram a técnica de GCT exclusivamente encontraram uma taxa de QNS de 26,2% (IC 95%, 17,6 – 34,9) em uma população com idade inferior a 6 semanas de vida. Os preditores encontrados foram etnia afro-americana, peso ao teste inferior a 2kg, prematuridade e idade pós-menstrual de 36 semanas.<sup>9</sup>

Já o trabalho que realizou a coleta exclusivamente por Macroduct<sup>®</sup> encontrou uma taxa de QNS de 12,7% e como preditores a prematuridade e peso no dia da coleta inferior a 3kg.<sup>10</sup>

O terceiro estudo analisou quatro centros americanos de FC, sendo que em um deles, centro a coleta de suor foi realizada por Macroduct<sup>®</sup> e, em três deles, pela técnica de Gibson e Cooke. Foi realizada apenas análise univariada e os centros apresentaram taxa de QNS de 14,4% e foi descrito que pacientes nascidos antes de 39 semanas de gestação apresentaram QNS de 20,2% ao passo que os acima de 39 semanas apresentaram 8,7% de QNS.<sup>11</sup>

Uma grande semelhança entre os estudos nessa faixa etária é o achado da constante associação entre prematuridade e QNS. De acordo com o presente atual estudo, os prematuros têm um risco 5,4 vezes maior para apresentarem amostras insuficientes de

suor. Outros autores também encontraram risco aumentado de QNS nesse grupo (OR de 19,09).<sup>9</sup>

O atual estudo é o primeiro que descreve o ganho de peso diário como preditor de QNS, ou seja, pacientes com o ganho de peso inferior a 26 g/dia. Na atual avaliação, pacientes com baixo peso apresentaram um risco 3,6 maior de QNS (OR = 3,6; IC 95% 1,1-11,6; P=0,03).

A grande maioria dos estudos analisa como preditor de QNS, o valor do peso do paciente no dia da coleta. Diferente do que é exposto na literatura, a presente análise buscou o peso exato com o qual a criança apresentaria maior risco de QNS, sendo o valor encontrado de 3800g. Assim, crianças com peso inferior a 3800g no dia da coleta apresentam um risco 4 vezes maior de apresentarem quantidade insuficiente de suor. A CFF descreve aumento da probabilidade de sucesso na coleta de suor quando o lactente apresentar peso superior a 2000g.<sup>5,13</sup> Essa taxa aumenta à medida que o peso do paciente no dia da coleta aumenta. Um estudo citou uma taxa de QNS de 40% em lactentes com menos de 2.000g no dia do exame.<sup>11</sup> Esse fato também é confirmado por outros estudos que encontraram uma taxa de QNS de 77,8% e 31,2% em bebês menores de 2.000g, e com peso entre 2.000g e 3.000g no momento da coleta do suor, respectivamente.<sup>9</sup> Assim, é descrito que o risco de QNS reduz 70% para cada aumento de 1000g após o nascimento. (OR 0,3, IC 95% 0,2, 0,5).<sup>1</sup>

Um outro ponto importante a ser analisado é o peso ao nascimento. Sabe-se que o baixo peso ao nascer está relacionado amostras insuficientes de suor (OR 4,9, IC95% 2,0, 11,9).<sup>1</sup> O presente estudo encontrou 152 lactentes com peso ao nascimento abaixo de 2300g, e desses 20 (13,1%) não apresentaram amostra suficiente de suor.

Em relação à idade no dia da coleta, embora a maioria dos estudos descreva uma relação direta entre a QNS e a pequena idade no dia da coleta do suor,<sup>1,8,11</sup> alguns autores não consideram bem estabelecido se a idade ao dia do teste é o melhor preditor dos resultados de QNS.<sup>2,5</sup> O atual estudo apresentava 150 recém-nascidos e apenas 2% deles tiveram QNS.

Estudo recente avaliou a taxa de QNS em lactentes com idade inferior a 14 dias, e inferior a 3 meses, em diversos centros de FC, sendo encontrada uma taxa média de QNS de 10,5% (variação 0-100%) no primeiro grupo, sendo as maiores taxas de QNS entre os prematuros.<sup>8</sup> No estudo 22% dos lactentes não apresentaram suor suficiente até 60 dias de vida. Apesar disso, o estudo afirma que o teste do suor não deve ser atrasado

em crianças com triagem positiva, mesmo sabendo que quase de 20% dos menores de 2 semanas de idade apresentarão volume inadequado de suor.<sup>8</sup>

Enfim, estudos têm demonstrado uma grande variedade nas taxas de QNS, principalmente secundárias à baixa idade e peso no dia da coleta, à presença de prematuridade e até à técnica de coleta de suor. Um ponto importante relacionado à literatura refere-se ao fato de quanto mais fatores de risco a criança possui, maior é o risco de QNS.<sup>10</sup>

O presente estudo mostrou que prematuridade, peso ao dia da coleta do suor inferior a 3800g e ganho de peso diário inferior a 26g/dia são fatores diretamente relacionadas ao aumento do risco de insucesso na coleta do suor.

## 5. Conclusão

Os resultados do presente estudo sugerem que em países de baixa-média renda e menor incidência como o Brasil é possível obter taxas de QNS que atendem aos padrões da CFF para recém-nascidos e lactentes jovens. É sabido que o diagnóstico precoce de FC é fundamental para início precoce do tratamento. O sucesso da coleta contribui para a confirmação ou exclusão de FC com mais agilidade e precocidade, reduzindo custos para municípios e ansiedade dos pais.

Assim, para minimizar os riscos de QNS, nossos resultados sugerem realizar o teste do suor quando o lactente atingir mais de 37 semanas (idade corrigida), apresentar ganho de peso diário igual ou superior a 26g e principalmente um peso não inferior a 3800g no dia da coleta do suor.

## Referências

1. Kley 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*. 2011;46:23–30.
2. Laguna TA, Lin N, Wang Q, Holme B, McNamara J, Regelman WE. Comparison of quantitative sweat chloride methods after positive newborn screen for cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47:736–42.
3. Parad RB, Comeau AM, Dorkin HL, Dovey M, Gerstle R, Martin T, et al. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening. *J Pediatr*. 2005;147:69–72.

4. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr.* 2007;151:85–9.
5. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr.* 2008;153:S4–14.
6. LeGrys VA, McColley SA, Li A FaP. The Need for Quality Improvement in Sweat Testing Infants Following Newborn Screening for Cystic Fibrosis. *J Pediatr.* 2010;157:1035–7.
7. Shenoy A, Spyropoulos D, Peeke K, Smith D, Cellucci M, Chidekel A. Newborn Screening for Cystic Fibrosis: Infant and Laboratory Factors Affecting Successful Sweat Test Completion. *Int J Neonatal Screen.* 2020;7:1-9.
8. McColley SA, Elbert A, Wu R, Ren CL, Sontag MK, LeGrys VA. Quantity not sufficient rates and delays in sweat testing in US infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2020;55:3053–6.
9. Eng W, LeGrys VA, Schechter MS, Laughon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatr Pulmonol.* 2005;40:64–7.
10. Collins MN, Brawley CB, McCracken CE, Shankar PRV, Schechter MS, Rogers BB. Risk factors for quantity not sufficient sweat collection in infants 3 months or younger. *Am J Clin Pathol.* 2014;142:72–5.
11. Abdulhamid I, Kleyn M, Langbo C, Gregoire-Bottex M, Schuen J, Shanmugasundaram K, et al. Improving the Rate of Sufficient Sweat Collected in Infants Referred for Sweat Testing in Michigan. *Glob Pediatr Heal.* 2014;1:1–7.
12. Gomez CCS, Marson FAL, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro MÂGO, Gama VAL, et al. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis. *BMC Pulm Med.* 2018;18:1–16.
13. Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017;18:S4–15.

Artigo 5

**Emprego do teste de condutividade iônica do suor para o diagnóstico de fibrose cística: estudo da validade diagnóstica**

Editado em português de acordo com os Standards for Reporting Diagnostic Accuracy (STARD)

## **Emprego do teste de condutividade iônica do suor para o diagnóstico de fibrose cística: estudo da validade diagnóstica**

### **RESUMO**

**Objetivo:** Avaliar a acurácia da condutividade iônica do suor para diagnóstico de fibrose cística em recém-nascidos e lactentes jovens.

**Métodos:** Foram recrutados prospectivamente e consecutivamente recém-nascidos e lactentes com idade inferior a 3 meses de vida, participantes de programa de triagem neonatal com dois resultados positivos para tripsinogênio imunorreativo na triagem neonatal. Os pacientes foram encaminhados ao único centro de referência em Minas Gerais, e suas respectivas amostras de suor, submetidas simultaneamente à condutividade iônica do suor e à cloridrometria. Os valores pré-definidos para confirmar o diagnóstico de FC através da cloridrometria e da condutividade iônica foram 60 mmol/L e 80 mmol/L, respectivamente.

Foram geradas tabelas de contingência  $2 \times 2$  para comparação dos resultados da cloridrometria e condutividade. De acordo com as diretrizes STARD foram calculadas a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, razões de verossimilhança positivo e negativo, coeficiente kappa, área sob curva ROC.

**Resultados:** Foram incluídos 1176 pacientes, 68 deles positivos e 1108 negativos à cloridrometria, cuja média e mediana de idade foram de 48 dias (DP 19,19) e 43 dias (intervalo de 15 a 90 dias), respectivamente. A condutividade iônica do suor apresentou sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, acurácia, RV positiva e negativa de 98,5%, 99,9%, 98,5%, 99,9%, 99,8%, 1091,7 e 0,01 respectivamente. Os valores do coeficiente kappa e da área sob a curva ROC foram 0,99 e 98,8%, respectivamente.

**Conclusão:** Os resultados sugerem que a CI pode ser usada para o diagnóstico confirmatório de FC em recém-nascidos e lactentes jovens, com resultados positivos para tripsinogênio imunorreativo na triagem neonatal, devido a excelente acurácia em comparação com a cloridrometria.

**Palavras-chave:** Fibrose cística, Gibson e Cooke, teste do suor, crianças, Triagem neonatal, condutividade

## Introdução

A triagem neonatal (TN) para fibrose cística (FC) é realizada em recém-nascidos pela dosagem tripsinogênio imunorreativo (TIR) no sangue. Em caso de TIR positiva, o exame é repetido e, caso se mantenha positivo a suspeita de FC é levantada. Na maior parte dos países da Europa e nos Estados Unidos, a pesquisa de mutação genética é realizada para se confirmar o diagnóstico, após duas dosagens de TIR positivas.<sup>1</sup>

Devido à pouca disponibilidade da genotipagem, principalmente em países de baixa e média renda, a dosagem de cloretos no suor (cloridrometria) ainda é muito usada e evidencia o diagnóstico de forma confiável em cerca de 98% dos pacientes.<sup>1</sup>

A cloridrometria é considerada como o padrão-ouro para diagnóstico de fibrose cística (FC).<sup>2-5</sup> Sendo assim, é um exame que apresenta elevados valores de sensibilidade e especificidade, porém necessita de um centro especializado e equipe capacitada e experiente para a sua realização.<sup>6-8</sup> Além disso, o método envolve várias etapas que vão da coleta do suor à análise química, envolvendo diferentes riscos de erro de pesagem, diluição e evaporação do suor,<sup>5,7,9</sup> o que aumenta a possibilidade de resultados falso-negativos e falso-positivos.<sup>2</sup> A proporção de resultados intermediários varia amplamente na literatura (2,4 a 40%)<sup>7,10,11</sup> e, caso ocorram, exigem a sua posterior repetição.<sup>12-13</sup>

A condutividade iônica no suor (CI) é um método alternativo que simplifica a indução, coleta e análise da amostra de suor.<sup>2</sup> Ele é um método mais rápido -fornece o resultado instantaneamente- e prático, quando comparado com a cloridrometria, uma vez que, além dessas vantagens, dispensa a necessidade de pesagem e diluição do suor.<sup>9</sup> Entretanto, a *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF) e o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), ambos dos Estados Unidos, ainda a consideram como método de triagem para a FC.<sup>14-15</sup>

Desde o ano de 2000, alguns estudos que compararam CI e cloridrometria, têm sido publicados. Esses estudos evidenciam que a CI tem boa acurácia quando comparada à cloridrometria, em crianças, adolescentes e adultos. Por exemplo, a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, variaram entre 83,3 e 100%, 96,2 e 100%, 83,3 e 100% e 94,7 e 100%, respectivamente.<sup>2,5,7,9,16-17</sup> Esses estudos incluíram populações com amostras inferiores a 750 pacientes, exceto um único deles que recrutou 3834 pacientes,<sup>7</sup> e um outro incluiu apenas recém-nascidos.<sup>5</sup>

Devido aos elevados indicadores de acurácia da CI acima citados, sua facilidade de execução, agilidade na geração dos resultados, possibilidade de ser realizado em laboratórios fora dos centros de referência para FC, ou seja, permite descentralizar o

diagnóstico e evitar longos deslocamentos de familiares, esse método torna-se uma ferramenta potencial para diagnosticar FC em países ou regiões de baixa e média renda e baixa prevalência da doença.

Outro ponto importante a ser levantado é a questão do custo, pois o valor de aquisição do cloridrômetro é quase 6 vezes superior ao do analisador de condutividade iônica.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a acurácia diagnóstica da condutividade iônica do suor diante da cloridrometria, em recém-nascidos e lactentes jovens com triagem neonatal positiva de FC. A hipótese de trabalho é que a CI tem acurácia próxima ou similar à do padrão-ouro.

## **Materiais e métodos**

### *Delineamento do estudo*

Trata-se de estudo prospectivo, observacional, realizado entre abril/2013 e outubro/2020, que foi baseado nas diretrizes *Standards for Reporting Diagnostic Accuracy* (STARD).<sup>18</sup> A coleta de dados foi toda ela cumprida imediata e sucessivamente após a realização dos dois testes em cada um dos participantes.

Trata-se de um estudo prospectivo realizado entre os meses de abril de 2013 a outubro de 2020, no NUPAD.

### *Participantes*

Foram admitidos recém-nascidos e lactentes com idade inferior a três meses de vida, estáveis clinicamente, com ausência de lesões cutâneas no dia do exame, participantes de Programa Estadual de Triagem Neonatal que apresentaram dois resultados positivos de tripsinogênio imunorreativo (ou seja, > 70mg/L). Todos eles foram submetidos à cloridrometria e à condutividade iônica do suor, no mesmo dia, no laboratório do Centro de Referência em Triagem e Diagnóstico Genético (NUPAD), localizado em Belo Horizonte, Brasil.

Indivíduos com lesões de pele de qualquer etiologia e instabilidade clínica foram excluídos, com o intuito de evitar o comprometimento da coleta e composição do suor e de minimizar a possibilidade de resultados equivocados. Também foram excluídos os pacientes que apresentaram resultados intermediários para a cloridrometria e condutividade iônica do suor.

## *Procedimentos*

### *Coleta e análise das amostras de suor*

#### *Coleta pelo sistema Macroduct® e análise pela condutividade iônica*

Inicialmente foi realizada a higienização do antebraço do lactente por um técnico. Em seguida, o Pilogel foi colocado no antebraço do paciente para estimular a sudorese por meio de uma corrente elétrica (1,5 miliamperes), por um período de 5 minutos.

Após o procedimento, o técnico higienizou a pele do paciente para receber o coletor Macroduct®, em formato de tira de pulseira, que é um disco concêntrico e côncavo, confeccionado com material plástico e possui um orifício central. O material foi usado uma única vez e descartado após cada exame. O suor produzido após o estímulo pelo gel de pilocarpina (Pilogel®) foi facilmente visualizado no coletor devido à coloração recebida por um corante azul, solúvel em água, que não interfere no resultado final da condutividade iônica. O tempo de coleta do suor foi exatamente o mesmo da cloridrometria, ou seja, 30 minutos, conforme recomendação do fabricante.<sup>14,19</sup>

A seguir o analisador Sweat-Chek® (modelo 3120, Wescor Inc., EUA) foi calibrado para remover vestígios de impureza, sendo injetados ar e água na célula, seguindo as orientações do fabricante.<sup>19</sup> Após esse passo, o material foi analisado pelo Sweat-Chek®, sendo o valor da condutividade iônica (em mmol/L) da amostra fornecido instantaneamente, após sofrer a devida calibração.

#### *Coleta pelo método Gibson e Cooke e dosagem de cloretos*

Inicialmente o antebraço do lactente foi higienizado com água destilada e gaze, sendo então secado para a colocação dos eletrodos com pilocarpina. A iontoforese de pilocarpina foi obtida após aplicação de uma corrente elétrica 2 e 4 miliamperes (mA) durante 5 minutos, com posterior retirada dos eletrodos. Uma gaze foi fixada no braço para coletar o suor. Após 30 minutos de contato com a pele, o material foi retirado, pesado em balança analítica, acondicionado em pote de plástico fechado e encaminhado ao laboratório de referência para análise de cloro pelo método de coulometria.<sup>6,20</sup> O tempo de coleta foi igualmente 30 minutos para se evitar o risco de evaporação do suor por coletas muito longas.<sup>14</sup>

#### *Pontos de corte para resultados positivos e negativos*

De acordo com a CFF e CLSI, foram previamente definidos como pontos de corte positivos os resultados iguais ou superiores a 60 mmol/L e 80 mmol/L, e como

negativos os resultados inferiores a 30 e 60 mmol/L, para a cloridrometria e condutividade, respectivamente. Resultados acima e abaixo desses intervalos foram considerados intermediários e foram objeto de análises secundárias. Ambos os testes, foram realizados de forma independente e cega, de forma que os técnicos que realizaram cada um deles só estiveram cientes dos resultados dos exames por eles executados.

### *Análise*

#### *Métodos empregados para comparar medidas de precisão diagnóstica*

Estatísticas descritivas foram utilizadas para caracterizar a população do estudo. A acurácia da CI em relação a cloridrometria foi avaliada através dos cálculos da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, acurácia global, razões de verossimilhança (RV) positiva e negativa, coeficiente kappa e área sob a curva ROC, cada um deles expressos pelos respectivos IC 95%.

Todas as análises foram realizadas no software SPSS, versão 23 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

#### *Tamanho da amostra*

O cálculo do tamanho amostra baseou-se na fórmula  $N=4Z_{\alpha}^2P(1-P)/W^2$ , na qual  $Z_{\alpha}$  equivale a 1,96; P, proporção que equivale à estimativa da sensibilidade ou especificidade, e W, a amplitude de variação do intervalo de confiança 95%. De acordo com a literatura que aponta uma sensibilidade média da CI de 98% e admitindo-se variação do IC 95% de 0,06,<sup>2,5,7,9,16-17</sup> seria necessário um mínimo de 83 pacientes com cloridrometria positiva. Em relação à especificidade, a literatura aponta uma especificidade média da CI de 99% e estipulando a amplitude de variação do IC 95% igual a 0,02,<sup>2,5,7,9,16-17</sup> seriam necessários, no mínimo, 380 pacientes com cloridrometria negativa.

#### *Aspectos éticos*

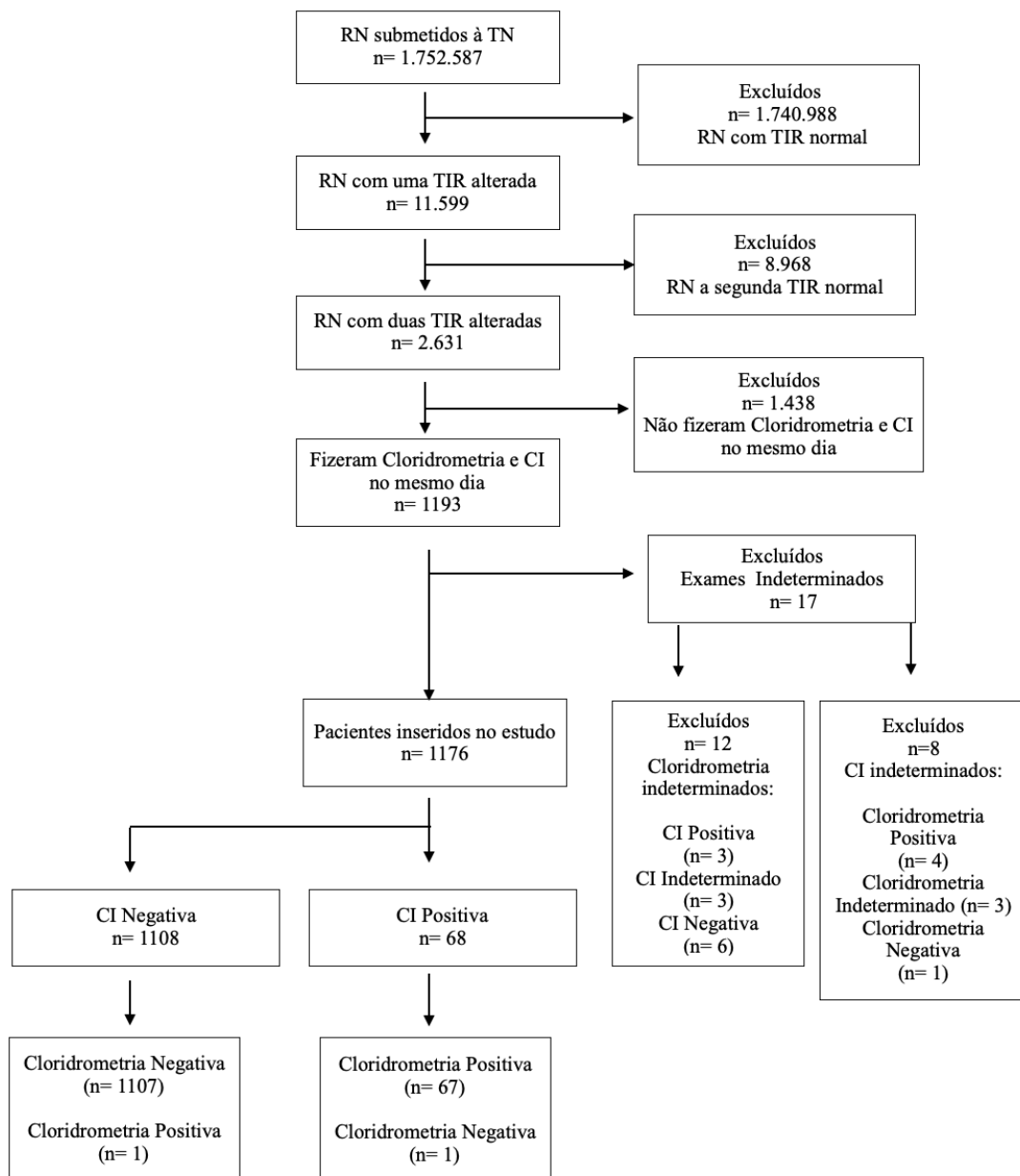
O protocolo de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número CAAE 21958014.1.0000.5149.

## **Resultados**

### *Participantes*

Um total de 1176 recém-nascidos e lactentes jovens foram recrutados, conforme evidenciado na figura 1, sendo que desses, 68 tiveram diagnóstico de FC.

Figura 1. Fluxo dos participantes através do estudo entre meses de abril de 2013 e outubro de 2020: diagrama STARD



Legenda: condutividade iônica (CI), recém-nascido (RN), tripsinogênio imunorreativo (TIR)

A tabela 1 apresenta as características gerais dos participantes comparando o grupo de pacientes com e sem FC respectivamente.

Tabela 1: Características descritivas dos pacientes com e sem FC

	Cloridrometria Positiva N (%)	Cloridrometria Negativa N (%)	Valor de p
Residente em			
Região Metropolitana de BH	8 (11,8)	277 (25)	0,01
Interior	60 (88,2)	831 (75)	
Gênero			
Feminino	35 (51,5)	555 (50,1)	0,86
Masculino	33 (48,5)	546 (49,3)	
Não registrado	0	7 (0,6)	
Idade Gestacional (semanas)			
< 37	1 (1,5)	102 (9,2)	0,03
≥ 37	61 (89,7)	999 (90,2)	
Não registrado	6 (8,8)	7 (0,6)	
Grupo etário			
Recém-nascidos	13 (19,1)	161 (14,5)	0,30
Lactentes	55 (80,9)	947 (85,5)	
Peso de Nascimento (g)			
< 2.500	5 (7,4)	142 (12,8)	0,21
≥ 2.500	60 (88,2)	954 (86,1)	
Não registrado	3 (4,4)	12 (1,1)	
Peso no dia da realização dos exames (g)			
< 2.000	0 (zero)	4 (0,4)	1,00
≥ 2.000	36 (52,9)	1061 (95,8)	
Não registrado	32 (47,1)	43 (3,8)	

Comparando as características sócio-demográficos e clínicos entre os grupos com e sem FC, não foi evidenciada uma diferença estatística significativa, exceto em relação ao local de residência, onde a grande maioria da população estudada nos dois grupos residia no interior do estado.

As idades média e mediana encontradas foram 48 dias (DP 19,19) e 43 dias (intervalo de 15 a 90 dias), respectivamente.

A maioria dos pacientes (75,8%) era proveniente do interior do estado de Minas Gerais. Houve equilíbrio entre a distribuição por gênero (feminino 50,2%). Do total de pacientes admitidos, 14,8% eram recém-nascidos. Predominaram crianças nascidas a termo (90,1%) e com peso ao nascimento igual ou acima de 2500g (86,2%).

No grupo com FC, os valores da média e mediana para a dosagem de cloretos no suor foi de 100,2 (DP  $\pm$  21,8) e 98,1 (intervalo interquartil 66-242), e para a condutividade do suor de 103,9 (DP  $\pm$  14,3) e 106,0 (intervalo interquartil 25-131), respectivamente.

Já para o grupo de pacientes sem FC, os valores da média e mediana para cloretos foram 10,9 (SD  $\pm$  4,4) e 10,2 (intervalo interquartil 2,4-29,7), e para a condutividade do suor foram 29,2 (SD  $\pm$  6,0) e 29 (intervalo interquartil 11-103), respectivamente.

#### *Acurácia da CI*

A distribuição dos resultados obtidos entre cloridrometria e CI é apresentada na tabela 2.

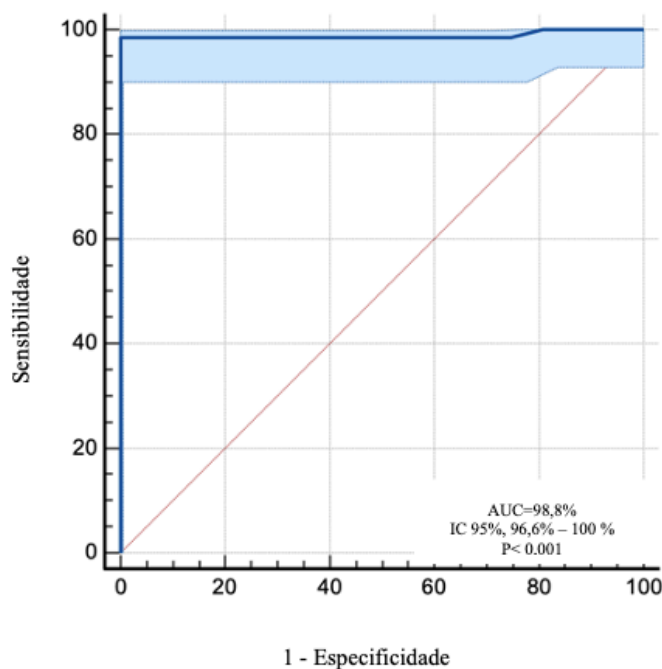
Tabela 2: Distribuição dos resultados da CI e cloridrometria na população estudada

		Cloridrometria		
		Positivo N (%)	Negativo N (%)	Total N (%)
Condutividade Iônica	Positivo	67 (98,5)	1 (0,1)	68 (5,8)
	Negativo	1 (1,5)	1107 (99,9)	1108 (94,2)
	Total	68 (100)	1108 (100)	1176 (100)

Após os cálculos, a sensibilidade alcançou 98,5% (IC 95%: 95,7-100), a especificidade 99,9% (IC 95%: 99,7-100), o VPP 98,5% (IC 95%: 95,7-100), o VPN 99,9% (IC 95%: 99,7-100) e a acurácia 99,8% (IC 95%: 99,6-100). Ademais, verifica-se que as razões de verossimilhança positiva e negativa foram, respectivamente, iguais a 1091,7 (IC 95%: 153,8- 7744,9) e 0,015 (IC 95%: 0,002-0,103), e o coeficiente kappa 0,99 (IC 95%: 0,97-1,0).

A curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) obtida para os 1176 participantes para avaliar a acurácia da CI no diagnóstico de FC está apresentada na Figura 3.

Figura 3 – Curva ROC dos 1176 participantes para avaliar a acurácia da CI no diagnóstico de FC



O perfil da curva revela elevadíssima concordância entre os resultados, positivos e negativos, da CI com aqueles da cloridrometria. A área sob a curva (AUC) foi de 98,8% (IC 95%: 96,6-100;  $p < 0,001$ ) e indica que a condutividade tem acurácia próxima da ideal para distinguir indivíduos com e sem FC.

A tabela 4 apresenta a relação dos resultados intermediários e sua relação tanto com a cloridrometria, quanto com a condutividade iônica.

Tabela 4- Resultados intermediários da cloridrometria e da CI na população estudada

		Cloridrometria			Total N (%)
		Positivo N (%)	Intermediário N (%)	Negativo N (%)	
Condutividade	Positivo	Zero	3 (25)	zero	3 (17,6)
	Intermediário	4 (100)	3 (25)	1 (100)	8 (47,1)
Iônica no Suor	Negativo	zero	6 (50)	zero	6 (35,3)
	Total	4 (100)	12 (100)	1 (100)	17 (100)

Foram excluídos da análise 17 pacientes (1,4% do total de incluídos) que apresentaram algum resultado intermediário. Oito apresentaram resultados intermediários

para a CI (0,7 % do total de incluídos), sendo quatro positivos, um negativo e três intermediários pela cloridrometria. Em relação à cloridrometria, 12 foram intermediários (1,0% do total de incluídos), sendo três positivos, seis negativos e três intermediários pela CI.

## **Discussão**

O presente estudo demonstrou que a condutividade iônica do suor (CI) apresenta excelente acurácia para o diagnóstico de FC em recém-nascidos e lactentes com idade inferior a três meses de vida, quando comparado ao método considerado como padrão-ouro, a cloridrometria. Esse fato é evidenciado pelos elevados valores de sensibilidade e especificidade (medidas que avaliam o desempenho do novo teste, em comparação com o teste padrão ouro), dos valores de VPP e VPN (úteis na parte de decisão clínica, uma vez que estimam a probabilidade de ser ter ou não a doença a partir de um resultado do teste), além das razões de verossimilhança (RV), que combinam todos os parâmetros acima mencionados.

No Brasil, assim como em outros países, a maioria dos diagnósticos de FC é realizada após a Triagem Neonatal (TN) alterada, sendo altamente relevante estudar a acurácia da CI em recém-nascidos e lactentes menores de três meses, considerando as particularidades e possíveis dificuldades na coleta de suor nessa faixa etária. Na revisão de literatura, foi encontrado apenas um outro estudo prospectivo e cego com foco em pacientes na faixa etária da TN.<sup>5</sup>

No estado do Paraná, Domingos e cols avaliaram 534 recém-nascidos, aproximadamente metade da amostra do presente estudo, comparando a condutividade iônica e a cloridrometria.<sup>5</sup> Eles evidenciaram 100% de sensibilidade (IC 95%: 94,8 - 100), especificidade de 96,2% (IC 95%: 93,8 - 97,8), valor preditivo positivo 83,3 (IC 95%: 74,4 - 91,1), valor preditivo negativo 100% (IC 95%: 90,5 - 109,4) e acurácia 96,8%,<sup>5</sup> resultados semelhantes ao do presente estudo. Houve diferença na razão de verossimilhança positiva, que no presente estudo foi de 1091,7 (IC de 95%: 153,88 - 7744,91) e no estudo de Domingos e cols. foi de 31,7 (IC 95%: 18,9-53,1).<sup>5</sup> A RV positiva encontrada no presente estudo indica que a probabilidade de um resultado positivo na CI corresponder ao resultado positivo da cloridrometria (ou seja, ao diagnóstico de certeza de fibrose cística) é mil vezes superior àquela que um resultado positivo na CI corresponda a um resultado negativo da cloridrometria. Já o valor da RV negativa expressa que a probabilidade de um resultado negativo na CI ocorrer diante de

uma cloridrometria positiva é nula, pois o valor da LR negativa foi, na prática, igual a zero. Como as RVs constituem um dos mais, ou mesmo os mais robustos entre os parâmetros de avaliação da acurácia de testes diagnósticos, é admissível dizer que a margem de erro quando comparada com a cloridrometria -padrão-ouro- é virtualmente inexistente. Em outras palavras, a sua acurácia para diagnosticar ou excluir fibrose cística em recém-nascidos e lactentes jovens muito se aproxima, ou mesmo reflete o que se espera de um exame ideal. Esta inferência, enfim, permite contrapor a noção hegemônica de seu papel apenas como exame de triagem como defendido pela CFF e CLSI.

O presente estudo apresentou apenas um resultado falso-positivo (1,5%) e um falso-negativo (0,1%) dentre os 1176 lactentes jovens analisados, enquanto Domingos e cols não encontraram nenhum resultado falso negativo, porém 16,7% dos resultados foram falso-positivos, não sendo citada a taxa de resultados intermediários.<sup>5</sup> O estudo paranaense fez a coleta de uma única amostra de suor exclusivamente por Macroduct<sup>®</sup> para a realização da CI e da cloridrometria. Após a dosagem da CI, a mesma amostra foi capturada por um tubo e encaminhada posteriormente para dosagem de cloreto.<sup>5</sup> Já o presente estudo realizou a coleta de duas amostras simultaneamente, sendo uma por Macroduct<sup>®</sup> e análise por CI e outra por GCT e análise por cloridrometria.

Diversos autores encontraram elevados valores de sensibilidade de 83,3 a 100%, especificidade de 97,3 a 100%, VPP de 90,9 a 100% e de VPN de 94,7 a 100% e concluíram que a CI é um exame adequado para o diagnóstico de FC, sendo um método confiável para confirmar ou excluir fibrose cística, quando comparado com o método padrão-ouro, a cloridrometria.<sup>2,7,9,16-17</sup> Houve sobreposição do intervalo de confiança (IC 95%) entre os estudos publicados, e o presente estudo apresentou a menor amplitude de variação, demonstrando maior precisão estatística os menores IC95% descritos até então.<sup>21</sup>

A FC é uma doença heterogênea, com amplo espectro genotípico e fenotípico. Para qualquer método utilizado, é esperada uma faixa de resultados de dúvida diagnóstica, chamados assim de intermediários ou indeterminados, com valores entre os pontos de corte para o resultado positivo e negativo. Descrever a ocorrência de exames indeterminados é importante, porém, entre os estudos analisados, apenas um relatou a proporção de valores intermediários (2,4%),<sup>7</sup> semelhante ao encontrado neste estudo (1,5%), e outro incluiu esses valores no grupo considerado negativo.<sup>9</sup> A dificuldade diagnóstica na faixa de resultados intermediários é amplamente reconhecida, pois, em

geral, esses pacientes apresentam doença clínica mais branda ou com manifestações atípicas, além de mutações genéticas mais raras.

A realização da TN para o diagnóstico precoce de FC representa um avanço para a promoção da atenção à saúde e da qualidade de vida desses pacientes. Em um país de dimensões continentais e desigualdades socioeconômicas abissais como o Brasil, a logística da TN requer vigilância contínua. A existência de um centro especializado de referência, como o Nupad em Minas Gerais, tem um papel fundamental para o sucesso da TN.

O Nupad realiza a TN para FC em Minas Gerais desde 2003, até o mês de abril de 2021, mais de 4 milhões de crianças foram triadas para FC, sendo que em torno de 300 se encontram em acompanhamento. A incidência de FC em Minas Gerais é de 1 caso para cada 10.800 nascidos vivos. Como exame de triagem, a dosagem de TIR apresenta alta sensibilidade e baixa especificidade. Em contexto de baixa prevalência, o número de resultados falso-positivos é elevado e a demanda por teste confirmatório é significativa.<sup>9</sup> Estima-se que mais de 80% dos pacientes triados como positivos são falso positivos.<sup>22</sup>

Considerando o período de estudo, para realizar o diagnóstico em 68 lactentes, mais de mil famílias se deslocaram de suas cidades no interior de Minas Gerais devido a resultado de exame de TN falso-positivo, não confirmado pela cloridrometria. As famílias recebem um teste de triagem alterado para uma doença até então sem cura, em seus bebês “recém-chegados”. Isso gera estresse e ansiedade em toda a família até que o diagnóstico seja confirmado ou afastado. Porém para a confirmação ou exclusão da FC, muitos tem que viajar longas distâncias para ter acesso ao centro de referência. Isso ocorre porque a cloridrometria, exame considerado padrão ouro para FC, é um método complexo, que requer um laboratório especializado e profissionais bem treinados e experientes para sua realização.<sup>5,7,9,23</sup> Vale ressaltar que o estado de MG é do tamanho da França, e possui apenas três centros capacitados e especializados para a realização do teste do suor.

O desgaste emocional, o desconforto e o custo para os municípios com o transporte da logística atual da TN não podem ser subestimados e alternativas devem ser propostas para minimizá-los. Além do mais, sabe-se do benefício da intervenção e tratamento precoce na evolução dos pacientes.<sup>24-25</sup> Assim, a descentralização da coleta e execução da confirmação de TN positiva representa uma necessidade e um desafio. Por ser uma técnica mais simples e de menor custo, a CI pode representar uma alternativa para viabilizar essa descentralização.

Como possível limitação do presente estudo cabe comentar que não foi possível recrutar o mínimo de 83 pacientes com cloridrometria positiva, pois trata-se de ambiente de baixa prevalência da doença (1:10.800). Porém a pequeníssima amplitude do IC 95% para a sensibilidade (95,7 – 100%) não parece ter comprometido a confiabilidade dos resultados, além do que esse é o estudo que analisou o maior número de lactentes com idade exclusivamente inferior a 3 meses de vida, público-alvo da triagem neonatal.

No presente estudo não foi descrito nenhum efeito adverso secundário à coleta do suor e vai ao encontro dos resultados da literatura, que relata como rara (1:50.000) a ocorrência de queimaduras leves no local de inserção dos eletrodos de pilocarpina, tanto pelo GCT, quanto pelo Macroduct®.<sup>19</sup>

Os resultados obtidos sugerem que a CI pode ser usada de como método diagnóstico de FC, para identificar com segurança recém-nascidos e lactentes menores de 3 meses com FC devido a sua elevada acurácia. A CI representa uma alternativa confiável para viabilizar a descentralização dos procedimentos diagnósticos na triagem neonatal da FC em países de dimensão continental como o Brasil, e que não utilizam a análise genética de forma rotineira, reduzindo custos diretos e indiretos e o estresse nas famílias.

#### **Referências:**

1. Alexander S, Alshafi K, Al-yaghchi C, Anderson A, Balfour- I, Bentley S, et al. Clinical Guidelines: Care of Children with Cystic Fibrosis, Royal Brompton Hospital. 2020;1–310.
2. Cinel G, Dođru D, Yalçin E, Özçelik U, Gürcan N, Kiper N. Sweat conductivity test: Can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? Turk J Pediatr. 2012;54:576–82.
3. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. Pediatrics. 1959;23:545–9.
4. Parad RB, Comeau AM, Dorkin HL, Dovey M, Gerstle R, Martin T, et al. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening. J Pediatr. 2005;147:69–72.
5. Domingos MT, Magdalena NIR, Cat MNL, Watanabe AM, Rosário Filho NA. Sweat conductivity and coulometric quantitative test in neonatal cystic fibrosis screening. J Pediatr. 2015;91:590–5.
6. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al.

- Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr.* 2008;153:S4–14.
7. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros.* 2003;2:1–7.
  8. Cirilli N, Southern KW, Buzzetti R, Barben J, Nährlich L, Munck A, et al. Real life practice of sweat testing in Europe. *J Cyst Fibros.* 2018;17:325–32.
  9. Mattar ACV, Leone C, Rodrigues JC, Adde FV. Sweat conductivity: An accurate diagnostic test for cystic fibrosis? *J Cyst Fibros.* 2014;13:528–33.
  10. Nelson MR, Adamski CR, Tluczek A. Clinical practices for intermediate sweat tests following abnormal cystic fibrosis newborn screens. *J Cyst Fibros.* 2011;10:460–5.
  11. Goubau C, Wilschanski M, Skalická V, Lebecque P, Southern KW, Sermet I, et al. Phenotypic characterisation of patients with intermediate sweat chloride values: Towards validation of the European diagnostic algorithm for cystic fibrosis. *Thorax.* 2009;64:683–91.
  12. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Sweat test clinical care guidelines. *J Pediatr.* 2007;151:85–9.
  13. Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017;18:S4–15.
  14. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr.* 2007;151:85–9.
  15. Wayne PNC for CLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing. Sample collection and quantitative analysis; approved guideline (document C34-A2). *Clin Lab Stand Inst.* 2009;29:1–49.
  16. Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reliability of sweat-testing by the Macroduct® collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2000;89:933–7.
  17. Mattar ACV, Gomes EN, Adde F V., Leone C, Rodrigues JC. Comparison between classic Gibson and Cooke technique and sweat conductivity test in patients with and without cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2010;86:109–14.

18. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, et al. STARD Group. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies *BMJ*. 2015;28;351:h5527
19. Wescor. Macroduct sweat collection system and sweat chek conductivity analyser product sheet. 2004;1:1–72. Available from: <https://www.wescor.com/translations/Translations/M2672-2A.pdf>
20. Gomez CCS, Marson FAL, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro MÂGO, Gama VAL, et al. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis. *BMC Pulm Med*. 2018;18:1–16.
21. Jaeschke R, Guyatt G, Sackett D. Users ' Guides to the Medical Literature A . Are the Results of the. *Jama*. 1994;271:389–91.
22. Mocelin H, Fischer GB, Castro SM, Grandi T, Chapper M, Rispoli T, et al. Triagem neonatal para fibrose cística no SUS no Rio Grande do Sul. *Bol Cient Pediatr*. 2017;06:3-8
23. Athanazio R, Silva Filho L, Vergara A, Ribeiro A, Riedi C, Procianoy E, et al. Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística. 2017;43:219–45.
24. Shenoy A, Spyropoulos D, Peeke K, Smith D, Cellucci M, Chidekel A. Newborn Screening for Cystic Fibrosis: Infant and Laboratory Factors Affecting Successful Sweat Test Completion. *Int J Neonatal Screen*. 2020;7:1.
25. Schlüter DK, Southern KW, Dryden C, Diggle P, Taylor-Robinson D. Impact of newborn screening on outcomes and social inequalities in cystic fibrosis: A UK CF registry-based study. *Thorax*. 2019;123–31.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a CFF considere a condutividade iônica como teste de triagem, vários estudos - inclusive o presente - evidenciaram sua excelente acurácia global com a cloridrometria, inclusive entre recém-nascidos e lactentes jovens.

O presente estudo demonstrou que a condutividade iônica do suor apresenta excelente correlação e concordância intra-individual quanto utilizada em ensaios simultâneos.

Além disso, foi possível demonstrar elevadas taxas de sucesso na coleta de quantidades suficientes de suor nesta mesma faixa etária, tanto pela técnica de Gibson-Cooke quanto por Macroduct<sup>®</sup>, atendendo, pois, às exigências da CFF.

Evidenciou-se também que a CI apresenta excelente acurácia quando comparada à cloridrometria, com valores adequados de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, razões de verossimilhança positivo e negativo.

Assim, os resultados deste trabalho sugerem que a CI pode ser uma ferramenta útil para o diagnóstico de FC em recém-nascidos e lactentes menores de 3 meses, com capacidade de discriminar de maneira eficaz pacientes com e sem FC.

Uma sugestão seria implantar a técnica em uma região-piloto, inicialmente com um “controle de qualidade”, verificando os resultados encontrados em comparação aos do centro de referência, como por exemplo, repetir alguns exames negativos e todos os positivos no laboratório do NUPAD. Seria necessário também instituir medidas de capacitação para técnicos de laboratório, além de manutenção de equipamentos.

Vencido o período de “piloto”, a CI poderia ser implementada em diversas regiões. Considerando que o Brasil é um país de baixa renda, a descentralização do diagnóstico de FC, permitiria reduzir os custos dos municípios com transporte, além de reduzir o estresse da família. Essa mudança seria realizada com segurança comprovada pela boa acurácia da CI, sem que haja prejuízo do ponto de vista de diagnóstico para os pacientes.

## 7- ANEXOS

### 7.1 – GLOSSÁRIO

**Validade:** capacidade de diferenciar entre os pacientes que tem ou não a doença, sendo útil para diagnosticar ou prever um evento.

**Sensibilidade:** é definida como a probabilidade de um teste ser positivo em um paciente sabidamente doente, ou seja, a capacidade de identificar corretamente as pessoas que realmente possuem a doença.

**Especificidade:** é definida como a probabilidade de um teste ser negativo em um paciente que não seja doente, ou seja, a capacidade de identificar corretamente as pessoas que não possuem a doença.

A sensibilidade e a especificidade são medidas para avaliar o desempenho do novo teste, em comparação com o teste padrão ouro, já existente.

**Valor Preditivo Positivo (VPP):** é a probabilidade de o paciente ser doente quando o teste é positivo.

**Valor Preditivo Negativo (VPN):** é a probabilidade de o paciente não ser doente quando o teste é negativo.

Os valores de VPP e VPN são mais úteis na parte de decisão clínica, uma vez que estimam a probabilidade de ser ter ou não a doença a partir de um resultado do teste. Dependem da prevalência da doença em dada população.

**Razão de verossimilhança (RV)** é a razão entre a probabilidade do resultado do teste (positivo ou negativo), entre aqueles com a doença e sem a doença. Ela indica a magnitude da evidência de que o resultado do teste fornece em favor da presença da condição em relação à sua ausência.

**RV positivo:** é a probabilidade do resultado do teste positivo entre aqueles com a doença em comparação com os pacientes sem a doença. RV positiva corrobora a presença da doença e varia de 1 a infinito, sendo, quanto maior o valor, maior a probabilidade de que um resultado positivo do teste indique doença.

**RV negativo:** é a probabilidade do resultado do teste negativo entre aqueles com a doença em comparação com os pacientes sem a doença. Já a RV negativa varia de zero a um, sendo quanto mais próximo de zero, menor a probabilidade de doença diante de um resultado negativo do teste.

**Kappa:** expressa a confiabilidade de um teste e quantifica a extensão em que a concordância observada excede o que seria esperado apenas ao acaso

**Acurácia:** é a capacidade de um teste discriminar entre saúde e doença, sendo quantificada por meio de medidas de precisão diagnóstica, como sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos, razões de verossimilhanças positiva e negativa.

**Precisão:** é a capacidade do teste produzir os mesmos resultados e aplicado ao mesmo paciente ou amostra.

**Reprodutibilidade:** é a habilidade do teste em produzir resultados consistentes quando o exame se repete.

**Curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC):** fornece informação complementar às razões de verossimilhança e é ferramenta clinicamente útil para avaliar o desempenho de métodos diagnósticos. Trata-se de método gráfico simples e robusto, que permite verificar a variação da sensibilidade e especificidade, a partir dos pontos de corte pré-definidos para os dois testes em estudos, condutividade e cloridrometria. Um teste ideal é aquele cuja área sob a curva ROC é igual a 1 (ou 100%) e nesse caso a curva toca ou se sobrepõe ao vértice do ângulo reto do quadrante superior esquerdo do diagrama. Quando a curva ROC coincide com a bissetriz, a área sob a curva é igual a 0,5 (ou 50%) e, neste caso, o método diagnóstico em estudo não permite distinguir doentes de sadios. Por outro lado, áreas iguais ou superiores a 0,8 (ou seja, probabilidade de 80%) revelam elevado poder discriminatório do teste diagnóstico em estudo.

**Referências:**

1. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 1. J Bras Pneumol. 2017;43:330.
2. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 2. J Bras Pneumol. 2018;44:4.
3. Ferreira JC, Patino CM. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 3. J Bras Pneumol. 2018;44:4.
4. Ware P. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement J. Lancet. 2015;1:1–9.
5. Reis, E.A., Reis I.A. Avaliação de Testes Diagnósticos. Relatório Técnico do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Minas Gerais. 2002. Disponível em: [www.est.ufmg.br](http://www.est.ufmg.br)
6. Borges LSR. Medidas de Acurácia diagnóstica na pesquisa cardiovascular. Int J Cardiovasc Sci. 2016;29:218–22.
7. Siqueira AR, Tibúrcio JD. Estatística na área da saúde: conceitos, metodologia, aplicações e prática computacional. Belo Horizonte: Coopmed; 2011.
8. Gordis L. Epidemiologia. 4º edição. Rio de Janeiro, Revinter; 2009.

## 7.2- ANEXO 2 –PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (COEP)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE - 21958014.1.0000.5149

Interessado(a): Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos  
Departamento de Pediatria  
Faculdade de Medicina- UFMG

### DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 01 de abril de 2014, o projeto de pesquisa intitulado "**Diagnóstico laboratorial da fibrose cística em recém-nascidos e lactentes muito jovens: análise comparativa entre os métodos clássico (Gibson & Cooke) e alternativo (condutividade iônica)**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

  
Prof. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG

### 7.3- ANEXO 3– DECLARAÇÃO DE APOIO INSTITUCIONAL



#### DECLARAÇÃO DE APOIO INSTITUCIONAL

Declaramos que o projeto intitulado “**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA FIBROSE CÍSTICA EM RECÉM-NASCIDOS E LACTENTES MUITO JOVENS: ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS CLÁSSICO (GIBSON & COOKE) E ALTERNATIVO (CONDUTIVIDADE IÔNICA)**”, coordenado pela Prof. Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos, foi considerado exequível no âmbito do Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da UFMG – NUPAD.

Conforme normas regimentais do NUPAD e cumpridas às diretrizes da sua Central de Projetos, o projeto receberá o apoio solicitado e aprovado pela coordenação do núcleo, detalhado no corpo do projeto base.

Belo Horizonte, 13 de março de 2014.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José Nélcio Januário'.

Prof. José Nélcio Januário  
Diretor Geral do NUPAD  
Faculdade de Medicina - UFMG



## 7.4- ANEXO 4- COPIA DA FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA

**Plataforma Brasil** MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP  
**FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS**

1. Projeto de Pesquisa: Diagnóstico laboratorial da fibrose cística em recém-nascidos e lactentes muito jovens: análise comparativa entre os métodos clássico (Gibson & Cooke) e alternativo (condutividade iônica)		2. Número de Participantes da Pesquisa: 3.000	
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>			
5. Nome: Paulo Augusto Moreira Camargos			
6. CPF: 174.655.678-53	7. Endereço (Rua, n.º): DO OURO 1138 SERRA 1502 BELO HORIZONTE MINAS GERAIS 30220000		
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: (31) 3287-8702	10. Outro Telefone:	11. Email: paulo.camargos@pq.cnpq.br
12. Cargo:			
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: <u>11 / 12 / 2013</u>		Assinatura: <u>[Handwritten Signature]</u>	
<b>INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>			
13. Nome: Universidade Federal de Minas Gerais	14. CNPJ:	15. Unidade/Orgão: Faculdade de Medicina da UFMG	
16. Telefone: (31) 3409-5000	17. Outro Telefone:		
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: <u>FRANCISCO JOSÉ PENNA</u>	CPF: <u>070.437.756-04</u>		
Cargo/Função: <u>DIRETOR</u>			
Data: <u>13 / 12 / 13</u>	Assinatura: <u>[Handwritten Signature]</u> Prof. Francisco José Penna Diretor da Faculdade de Medicina da UFMG Inscrição UFMG 25199-2 Inscrição Assinatura SIAPE: 6319308		
<b>PATROCINADOR PRINCIPAL</b>			

não se aplica.

Recursos próprios da UFMG

Bele Horizonte



## 7.5- ANEXO 5– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### Termo de consentimento livre e esclarecido

#### PROJETO DE PESQUISA

#### ***Diagnóstico laboratorial da fibrose cística em recém-nascidos e lactentes muito jovens: análise comparativa entre o método clássico (Gibson & Cooke) e alternativo (condutividade iônica)***

O teste do suor está indicado para seu(sua) filho(a) para afastar ou confirmar o diagnóstico de fibrose cística (FC) pois ele (ela) apresentou dois resultados anormais no teste do pezinho. Esse teste já é realizado, de forma rotineira, pelo NUPAD. Por ser um teste trabalhoso que necessita de profissionais muito experientes, nós estamos realizando uma pesquisa com o objetivo de comparar os resultados obtidos com o teste de rotina (teste clássico) com um teste realizado de forma mais simples (teste alternativo) e estamos convidando seu (sua) filho (a) para participar dessa pesquisa.

Desta forma saberemos se esse novo teste, que além de mais simples é bem mais rápido, é bom para o diagnóstico da doença.

#### PROCEDIMENTOS

Os testes serão realizados no NUPAD e os dois testes para coleta do suor serão realizados simultaneamente, um em cada braço do seu (sua) filho (a).

##### a) Teste clássico (teste de suor pela técnica de iontoforese por pilocarpina)

Nesse teste, o técnico do laboratório colocará 2 eletrodos (placas metálicas ligadas a uma corrente elétrica) no braço direito do seu filho(a). Os eletrodos serão ligados a uma fonte elétrica que transmitirá, durante cinco minutos, calor ao local onde estarão conectados. Esse estímulo não costuma dar nenhum desconforto. Após os cinco minutos os eletrodos serão retirados e o local será limpo com água destilada e seco com gaze. Será colocado um papel de filtro no local estimulado pelos eletrodos. O papel será coberto com plástico e enrolado com compressa para evitar evaporação do suor. Após 30 minutos, o plástico será removido e o papel retirado para coleta e análise do suor.

##### b) Teste simplificado (condutividade)

No braço esquerdo do seu (sua) filho(a) faremos ao mesmo tempo o teste do suor pela técnica mais simples. Ela consiste na coleta do suor através da colocação de um pequeno aparelho, semelhante a uma pulseira. Também será feita a estimulação através de energia elétrica, de forma semelhante ao teste clássico. O suor será coletado diretamente para o interior de uma espiral ou serpentina de plástico do próprio dispositivo e analisado posteriormente. O aparelho permanecerá no braço do seu filho(a) por 30 minutos podendo se estender por até 1 hora, se não for possível a coleta no tempo mínimo. Após esse tempo o aparelho será

retirado.

Após o término dos dois testes seu (sua) filho(a) será dispensado.

#### RISCOS

Existe um risco, muito, mas muito pequeno mesmo, de queimadura muito leve na pele com os dois tipos de teste do suor, porém tal incidente é bastante raro devido à vasta experiência dos técnicos do NUPAD que coletarão as amostras.

#### BENEFÍCIOS

Se esse estudo demonstrar que o teste do suor simplificado é equivalente ao clássico, poderá ser implantado em diversos laboratórios no Brasil, contribuindo para que o diagnóstico da fibrose cística ocorra mais cedo.

#### CONFIABILIDADE

Todos os resultados serão informados a você.

Todas as informações obtidas nesse estudo serão consideradas confidenciais e usadas somente para o propósito da pesquisa.

#### DIREITO DE RECUSAR OU SAIR DA PESQUISA

Minha participação nessa pesquisa é totalmente voluntária. Eu sou livre para não participar ou, a qualquer momento, sair do estudo, sem que isso afete de qualquer modo o meu seguimento no Instituto da Criança/Hospital das Clínicas.

#### CONSENTIMENTO

Declaro que, após convenientemente esclarecido e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente protocolo de pesquisa. Eu li e recebi uma cópia original deste TCLE devidamente assinada e datada por todos os envolvidos na pesquisa.

Assinatura do responsável:

\_\_\_\_\_

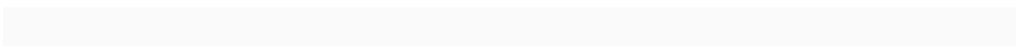
Assinatura do pesquisador:

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Telefone do Coordenador do Projeto de Pesquisa: (31) 3409 9773

Secretaria do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da



UFMG

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG  
Av. Antônio Carlos, 6627  
Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005  
Telefone: 34094592  
Campus Pampulha  
31270-901 Belo Horizonte, MG