



Resultado falso-negativo de tripsinogênio imunorreativo no teste de triagem neonatal: um problema relevante a considerar em crianças com doença pulmonar crônica

Magali Santos Lumertz^{1,a}, Thaiane Rispoli^{2,b}, Katiana Murieli da Rosa^{3,c}, Leonardo Araújo Pinto^{3,4,d}

AO EDITOR,

Sabe-se que é importante não só um adequado acompanhamento multidisciplinar especializado, mas também a realização do diagnóstico de modo precoce, a fim de se evitar ou retardar a evolução das complicações associadas à fibrose cística (FC). Para tanto, é fundamental a realização do teste de triagem neonatal (TTN) com a quantificação de *immunoreactive trypsinogen* (IRT, tripsinogênio imunorreativo).⁽¹⁾ Quando o TTN é realizado, muitos pacientes ainda são assintomáticos e, portanto, passíveis de intervenções profiláticas e terapêuticas mais precoces e eficazes.^(2,3) Entretanto, o IRT pode apresentar valores falso-positivos (FP), e, menos frequentemente, resultados falso-negativos (FN). Sendo o TTN um exame de triagem, a ocorrência desses resultados deve ser a menor possível. Na literatura médica conhecem-se mais fatores associados a valores FP do que a FN; há também mais estudos de seguimento do potencial impacto psicossocial de resultados FP na família e nas crianças, impacto esse que parece ocorrer até o esclarecimento da ausência da doença, sem afetá-los no longo prazo.⁽⁴⁾ Resultados FN podem ocorrer em lactentes que apresentaram íleo meconial (IM) — uma condição fortemente associada à FC — e nos que foram submetidos a testes com elevado valor de ponto de corte ou que realizaram a coleta tardiamente; ainda, esses resultados FN podem ser atribuídos a erros laboratoriais, como a eluição pouco eficiente da amostra de sangue seco no papel-filtro.^(5,6)

Em nosso centro de atendimento multidisciplinar terciário de FC identificamos quatro pacientes que apresentaram valores de IRT interpretados como FN (uma vez que os valores eram inferiores ao previsto pelo ponto de corte do TTN dos laboratórios). As características dos pacientes estão sumarizadas na Tabela 1. Os quatro pacientes eram de origem caucasiana e do sexo masculino, tendo dois deles apresentado IM ao nascimento e necessitado de ileostomia transitoriamente. Esses pacientes apresentaram valores de IRT no TTN de 98,7 ng/ml (coleta efetuada na primeira semana de vida) e de 88,5 ng/ml (exame realizado com aproximadamente um mês de vida). O valor de referência do laboratório era de 110 ng/ml. Ambos realizaram teste do suor e tiveram identificação genotípica, sendo realizado o diagnóstico de FC ainda antes da alta da internação neonatal. Já o terceiro paciente realizou o TTN aos 14 dias de vida, mas não foi

realizado o IRT, que não era coletado na rotina do sistema público de saúde estadual à época do nascimento dessa criança. Devido a infecções respiratórias de repetição já no primeiro ano de vida (e necessidade de internações hospitalares), além do baixo ganho pômbero-estatural, o médico assistente do paciente, que tinha ao redor de seis meses de idade, solicitou um TTN ampliado, cujo valor de IRT foi relatado como normal. Devido a um quadro de obstrução intestinal (e necessidade de laparotomia), além das demais alterações clínicas prévias, houve novamente a suspeita de FC e foi realizado o teste do suor, que confirmou o diagnóstico, sendo iniciado o acompanhamento ambulatorial especializado. O paciente era colonizado por *Staphylococcus aureus*, tendo já apresentado culturas positivas para *Pseudomonas aeruginosa* que posteriormente negativaram com o tratamento de erradicação. O quarto paciente realizou TTN aos seis dias de vida com resultado de IRT de 39,4 ng/ml (valor de referência do laboratório: 110 ng/ml). A equipe de pediatria solicitou, devido a déficit de crescimento, esteatorreia, tosse e sibilância recorrentes, o teste do suor (paciente com três anos de idade), cujo nível de cloreto foi de 118 mmol/l em uma amostra de 231 g.

Em países onde se realiza o rastreamento neonatal para FC⁽⁷⁾ existem diferentes estratégias adotadas, com suas respectivas vantagens e desvantagens. No Brasil, em estados onde já há TTN para FC, o protocolo utilizado é o da realização de exame diagnóstico (usualmente o teste do suor) quando da presença de dois IRT alterados (protocolo IRT/IRT). No estado do Rio Grande do Sul a mensuração do IRT foi incluída de modo universal ao TTN a partir de junho de 2012. Nos países desenvolvidos frequentemente são utilizadas estratégias que incluem avaliação genética, seja por meio de pesquisa de mutações mais frequentes do gene *CFTR*, que codifica a proteína reguladora da condutância transmembrana, seja pelo sequenciamento do gene (protocolo IRT/DNA).⁽⁸⁾ Além disso, alguns desses países voltaram a analisar a possibilidade de se utilizar protocolos que incluam a quantificação da proteína associada à pancreatite junto ao IRT no lugar da estratégia IRT/DNA, com resultados não inferiores como triagem.⁽⁹⁾

Apesar de o TTN identificar de 95% a 99% dos recém-nascidos com FC (dependendo do rastreamento utilizado), resultados FN para IRT podem causar atraso no diagnóstico,

1. Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.

2. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.

3. Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.

4. Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.

a. <http://orcid.org/0000-0001-9282-272X>; b. <http://orcid.org/0000-0003-4421-8995>; c. <http://orcid.org/0000-0001-7120-3022>;

d. <http://orcid.org/0000-0002-3906-5456>

Tabela 1. Características dos pacientes.

Caso	Valor IRT/VR (ng/ml)*	Valor cloro suor (mmol/l)	Genótipo	Íleo meconial	Baixo ganho de peso pré-diagnóstico	Infecções respiratórias recorrentes	Uso de enzimas pancreáticas	Colonização bacteriana da via aérea
1	98,7/110	85	F508del/R1162X	X			X	MRSA
2	88,5/110	54	F508del/F508del	X			X	SA
3	^a	111	F508del/R1162X		X	X	X	SA
4	39,4/110	118	F508del/F508del		X	X	X	SA

IRT: *immunoreactive trypsinogen* (tripsinogênio imunorreativo); VR: valor de referência; MRSA: *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina); e SA: *Staphylococcus aureus*.
*Relato de IRT normal, sem confirmação dos valores.

especialmente se o pediatra não valorizar os sinais clínicos da doença ante a um resultado de teste de triagem dentro dos limites de normalidade.⁽¹⁰⁾ Deve-se lembrar que o IRT não é um teste diagnóstico,⁽⁵⁾ e, independentemente de seus resultados, o teste do suor deve ser realizado em qualquer paciente com suspeita clínica de FC, incluindo todos os pacientes com resultados negativos de IRT e com IM, assim como qualquer criança cujos pais são portadores de mutações associadas à FC.⁽¹⁰⁾ Dos quatro pacientes identificados em nosso centro, identificamos fatores associados a potenciais resultados FN em três: dois apresentaram IM, sendo aventada a possibilidade de FC e efetuado o seguimento diagnóstico; e um teve a realização de IRT fora do período adequado para sua interpretação como teste de triagem, realizando-o somente por volta dos seis meses de idade, quando já havia a presença de sintomas clínicos, o que levou a um equívoco na interpretação do resultado e consequente retardo diagnóstico. Em apenas um caso (IRT de 39,4 ng/ml) não foram identificados fatores associados ao resultado FN.

Um grupo de autores descreveu casos que apresentaram TTN com resultado FN, mesmo com a utilização de análise genética do *CFTR* como estratégia de rastreamento.⁽⁵⁾ Entretanto, no Brasil, um estudo⁽¹¹⁾ encontrou somente um caso de falha no TTN com resultado FN em um período de 30 meses no estado do Paraná, e um estudo envolvendo dois centros de triagem no estado de São Paulo relatou a ausência de falhas no TTN para FC em um período de quase dois anos.⁽¹²⁾

Dessa forma, por ser de amplo conhecimento que o TTN para FC permite intervenções terapêuticas mais precoces, é importante que o diagnóstico não seja feito somente se levando em consideração o resultado do IRT. Deve-se lembrar que todo paciente que apresente sinais e sintomas clínicos que levem a suspeita de FC, além daqueles que tiveram IM ou que possuem irmãos com FC, independentemente do resultado de IRT, devem realizar o teste do suor e/ou o sequenciamento do gene *CFTR*.

REFERÊNCIAS

- Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet*. 1979;1(8114):472-4. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(79\)90825-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(79)90825-0)
- Stocks J, Thia LP, Sonnappa S. Evaluation and use of childhood lung function tests in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2012;18(6):602-8. <https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e328358dfbe>
- Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, Laxova A, Zeng L, Lai HC, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *Pediatrics*. 2001;107(1):1-13. <https://doi.org/10.1542/peds.107.1.1>
- Hayeems RZ, Miller FA, Barg CJ, Bombard Y, Kerr E, Tam K, et al. Parent Experience With False-Positive Newborn Screening Results for Cystic Fibrosis. *Pediatrics*. 2016;138(3): pii: e20161052. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-1052>
- Dunn CT, Skrypek MM, Powers AL, Laguna TA. The need for vigilance: the case of a false-negative newborn screen for cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2011;128(2):e446-9. <https://doi.org/10.1542/peds.2010-0286>
- Kloosterboer M, Hoffman G, Rock M, Gershan W, Laxova A, Li Z, et al. Clarification of laboratory and clinical variables that influence cystic fibrosis newborn screening with initial analysis of immunoreactive trypsinogen. *Pediatrics*. 2009;123(2):e338-46. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-1681>
- Southern KW. Determining the optimal newborn screening protocol for cystic fibrosis. *Thorax*. 2012;67(4):281-2. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2012-201589>
- Southern KW, Munck A, Pollitt R, Travert G, Zanolla L, Dankert-Roelse J, et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros*. 2007;6(1):57-65. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2006.05.008>
- Sarles J, Giorgi R, Berthézène P, Munck A, Cheillan D, Dagorn JC, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP. *J Cyst Fibros*. 2014;13(4):384-90. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2014.01.004>
- Comeau AM, Accurso FJ, White TB, Campbell PW 3rd, Hoffman G, Parad RB, et al. Guidelines for implementation of cystic fibrosis newborn screening programs: Cystic Fibrosis Foundation workshop report. *Pediatrics*. 2007;119(2):e495-518. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1993>
- Santos GP, Domingos MT, Wittig EO, Riedi CA, Rosário NA. Neonatal cystic fibrosis screening program in the state of Paraná: evaluation 30 months after implementation [Article in Portuguese]. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81(3):240-4. <https://doi.org/10.2223/JPED.1345>
- Rodrigues R, Magalhaes PK, Fernandes MI, Gabetta CS, Ribeiro AF, Pedro KP, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis in São Paulo State, Brazil: a pilot study. *Braz J Med Biol Res*. 2009;42(10):973-8. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2009005000017>