



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



**Monografia**

**Prevalência da mutação  $\Delta F508$  em pacientes com fibrose cística  
em população miscigenada do Nordeste Brasileiro**

**Carlos Sidney Silva Pimentel**

Salvador (Bahia)  
Setembro, 2013

**UFBA/SIBI/Bibliotheca Gonçalo Moniz: Memória da Saúde Brasileira**

P644 Pimentel, Carlos Sidney Silva  
Prevalência da mutação  $\Delta F508$  em pacientes com fibrose cística em população miscigenada do Nordeste Brasileiro / Carlos Sidney Silva Pimentel. Salvador: 2013.

viii; 38 p. : il.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Edna Lúcia Santos de Souza.  
Monografia (Conclusão de Curso) Universidade Federal da Bahia,  
Faculdade de Medicina da Bahia, Salvador, 2013.

1. Fibrose cística - Crianças. 2. Gene - CFTR. 3. Mutação. I. Souza, Edna Lúcia Santos e II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina. III. Título.

CDU - 616.24-053



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



## Monografia

# Prevalência da mutação $\Delta F508$ em pacientes com fibrose cística em população miscigenada do Nordeste Brasileiro

**Carlos Sidney Silva Pimentel**

Professor orientador: **Edna Lucia Santos de Souza**  
Coorientador: **Renata Lúcia L. Ferreira de Lima**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2013.1, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia)  
Setembro, 2013

**Monografia:** *Prevalência da Mutação  $\Delta F508$  em pacientes com Fibrose Cística em população miscigenada do Nordeste Brasileiro*, de **Carlos Sidney Silva Pimentel**.

Professor orientador: **Edna Lucia Santos de Souza**  
Coorientador: **Renata Lúcia L. Ferreira de Lima**

**COMISSÃO REVISORA**

- **Edna Lucia Santos de Souza** (Presidente), Professora Adjunta IV do Departamento de Pediatria (DPED) da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: Edna Lucia Santos de Souza

- **Antônio Carlos Moreira Lemos**, Departamento de Medicina Interna e Apoio Diagnóstico (DEPMD) da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia .

Assinatura: Antônio Carlos Moreira Lemos

**TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO:** Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no V Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

“A vida seria insignificante se não fossem as nossas atitudes, às vezes, contestadas.”  
**Marcos Fábio Araújo da Silva**

Aos Meus Pais, **Carlos Sidiney e**  
**Maria do Carmo Pimentel**

## **EQUIPE**

- Carlos Sidney Silva Pimentel, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: [pimentel.carlos07@gmail.com](mailto:pimentel.carlos07@gmail.com);
- Edna Lucia Santos de Souza, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: [souza.ednalucia@gmail.com](mailto:souza.ednalucia@gmail.com);
- Renata Lúcia L. Ferreira de Lima, Instituto de Biologia/UFBA. Correio-e: [limare@yahoo.com](mailto:limare@yahoo.com);

## **INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES**

### **UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

- Faculdade de Medicina da Bahia (FMB) – Departamento de Pediatria
- Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos

## **FONTES DE FINANCIAMENTO**

- |  |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos</li><li>2. Recursos próprios.</li></ol> |
|--|

## AGRADECIMENTOS

- ◆ A minha Professora orientadora, Doutora **Edna Lucia Santos de Souza**, pela presença constante e substantivas orientações acadêmicas e à minha vida profissional de futuro médico.
- ◆ À Doutora **Renata Lúcia L. Ferreira de Lima**, minha Coorientadora, pela contribuição dedicada a esta monografia.
- ◆ Ao Professor **José Tavares-Neto**, pela dedicação e esforço para o aprimoramento do Núcleo de Formação Científica da Faculdade de Medicina da Bahia.
- ◆ À toda equipe de assistência aos pacientes com fibrose cística do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos.
- ◆ Aos meus pais, **Carlos Sidiney Pimentel e Maria do Carmo Silva Pimentel**, aos meus irmãos **Carlos André Silva Pimentel, Alana Carla Silva Pimentel e Andréa Carla Silva Pimentel**, e minha sobrinha **Tainá Costa Pimentel**, por sempre me incentivarem.
- ◆ Aos meus amigos, pela amizade, apoio e atenção que sempre contribuíram para meu crescimento pessoal.



**ÍNDICE**

<b>I.</b>	<b>ÍNDICE DE QUADROS, GRÁFICOS E TABELA</b>	<b>02</b>
<b>II.</b>	<b>RESUMO</b>	<b>03</b>
<b>III.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>04</b>
<b>IV.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
<b>V.</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>11</b>
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>14</b>
<b>VII.</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>18</b>
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>21</b>
<b>IX.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>22</b>
<b>X.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>23</b>
<b>XI.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>26</b>
	• ANEXO I – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do HUPES	<b>26</b>
	• ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	<b>28</b>
	• ANEXO III – Formulário para Coleta de Dados	<b>31</b>

## I. ÍNDICE DE QUADROS, GRÁFICOS E TABELA

### QUADROS

**QUADRO 1** – Critérios diagnósticos propostos pela *Cystic Fibrosis Foundation*. **05**

**QUADRO 2** - Protocolo da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). **13**

### GRÁFICOS

**GRÁFICO 1** – Número de pacientes por faixa etária de início dos sintomas da doença. **16**

**GRÁFICO 2** - Tempo médio (N e %) entre o início dos sintomas e a confirmação do diagnóstico. **16**

### TABELA

**TABELA 1** - Frequência de manifestações clínicas da FC, no momento do diagnóstico, de acordo com a presença ou não da mutação  $\Delta F508$ . **17**

## II. RESUMO

**Prevalência da mutação  $\Delta F508$  em pacientes com fibrose cística em população miscigenada do Nordeste Brasileiro.** Introdução: A fibrose cística (FC) é uma doença hereditária autossômica recessiva, potencialmente letal e causada por mutações no gene que codifica a proteína *cystic fibrosis transmembrane regulator* (CFTR). Existe mais de 1.900 mutações associadas à doença, sendo a mutação  $\Delta F508$  a mais comum em caucasianos. Objetivo: Determinar a prevalência da mutação  $\Delta F508$  nos pacientes com FC atendidos no Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos. Metodologia: Realizado um estudo de corte transversal. A população estudada foi composta por pacientes portadores de FC de 0 a 20 anos. Após a inclusão no estudo, os pacientes realizaram coleta de sangue para investigação da mutação  $\Delta F508$ . Resultados: Trinta e nove pacientes foram incluídos, com média de idade de  $9,0 \pm 5,9$  anos, mediana de 7,7 anos, sendo 20 (51,2%) do sexo masculino. A mutação  $\Delta F508$  foi observada em 13 pacientes (33,3%). Destes, cinco (38,4%) foram homozigotos e oito (61,6%) heterozigotos. Com relação aos alelos, foram observados 18 portadores (18/78 ou 23%) e 60 não portadores (60/78 ou 77%). Conclusões: A frequência da mutação  $\Delta F508$  está abaixo da encontrada em populações do Sudeste Brasileiro. O diagnóstico da doença foi tardio e os pacientes portadores da mutação  $\Delta F508$  tiveram sintomas precoces e apresentaram insuficiência pancreática.

Palavras-chave: 1. Fibrose cística - Crianças; 2. Gene - CFTR; 3. Mutação.

### III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A fibrose cística (FC) é uma doença hereditária autossômica recessiva, potencialmente letal, causada por mutações no gene que codifica a proteína *cystic fibrosis transmembrane regulator* (CFTR) (Milagres et al., 2008). O transporte anormal do cloreto de sódio através do epitélio respiratório, devido à mutação no gene CFTR, resulta em secreções espessadas (Rowe et al, 1992; Ratjen et al., 2003). Assim, após variável período de tempo, que pode ser de meses a décadas a partir do nascimento, o indivíduo pode desenvolver infecção crônica do trato respiratório com uma disposição característica da flora bacteriana levando a insuficiência respiratória progressiva (Gibson et al., 2003).

Trata-se de uma doença multissistêmica e, nas formas clássicas, se caracteriza por acometimento pulmonar progressivo, disfunção pancreática exócrina e concentração elevada de cloro no suor (Saraiva-Pereira et al., 2011). No entanto, muitos pacientes têm sintomas leves ou atípicos. Dessa forma, os clínicos devem estar atentos mesmo quando somente alguns dos sintomas mais comuns estiverem presentes (Ratjen et al., 2003).

A FC ocorre na União Europeia em cada 1:2.000 a 3.000 recém-nascidos, enquanto nos Estados Unidos essa frequência é de 1 em cada 3.5000 nascimentos (Firmida, 2011). É esperada em 1:9.200 hispânicos, 1:15.000 afro-americanos e 1:30.000 asiático-americanos (Hamosh et al., 1998). Esta doença vem sendo reconhecida também em outras populações como aquelas do Sul e Leste da Ásia, África e América Latina. As estimativas de prevalência tendem a aumentar com a realização cada vez maior da triagem neonatal e do diagnóstico de indivíduos com doença leve (UpToDate, 2013).

A triagem neonatal para FC no Brasil foi iniciada no Estado do Paraná (PR), em 2001. Desde então vem sendo progressivamente ampliada nos diversos Estados. Em 2013, a realização deste exame foi iniciada na Bahia. Se o resultado da triagem neonatal for positivo para FC faz-se necessário realizar a dosagem do cloro no suor que representa o principal teste para o diagnóstico da doença (Farrel et al., 2008). Trata-se de um método não invasivo e de baixo custo com elevadas sensibilidade e especificidade, superiores a 95% (Ribeiro et al., 2007). O teste do suor, padronizado por Gibson e Cooke, em 1958, é realizado através da iontoforese com pilocarpina para dosagem do íon cloreto (Denning et al., 1980).

Os valores de referência do cloro do suor variam de acordo com a idade. Para crianças menores de seis meses: negativo se menor que 29 mmol/L, intermediário entre 30 a 59 mmol/L e positivo se maior ou igual 60 mmol/L. Para crianças maiores de seis meses: negativo se menor que 39 mmol/L, intermediário entre 40 a 59 mmol/L e positivo se maior ou igual 60 mmol/L (Farrel et al., 2008).

O diagnóstico de FC, em mais de 90% dos casos, é baseado na suspeição clínica sendo confirmada por dois testes do suor positivos e/ou a identificação de duas mutações no cromossomo 7 (Wallis, 1997). A *Cystic Fibrosis Foundation* (CFF), organização americana sem fins lucrativos e fundada com o objetivo de contribuir no controle da doença, melhorando a qualidade de vida destes pacientes, criou um painel sintetizando os critérios para o diagnóstico (Quadro 1).

Quadro 1. Critérios diagnósticos para Fibrose Cística (Adaptado da *Cystic Fibrosis Foundation*).

**Presença de:**

**Uma ou Mais**

Doença sinusal ou pulmonar crônica

Anormalidades nutricionais ou gastrintestinais

Síndromes perdedoras de sal

Azoospermia obstrutiva

**Ou**

História familiar de FC em irmão

**Ou**

Teste positivo de triagem neonatal

**E**

Teste do suor positivo em duas ocasiões diferentes

**Ou**

Identificação de duas mutações da FC

**Ou**

Alteração do transporte nasal

As tentativas de se estabelecer uma relação entre fenótipos e mutações específicas do gene CFTR têm sido bem sucedidas particularmente para o status da doença pancreática (Lima et al., 2012). A mutação  $\Delta F508$ , principalmente em indivíduos homocigotos, está relacionada com a forma clássica da doença, a qual se caracteriza por elevação significativa de eletrólitos no suor, doença pulmonar obstrutiva (que pode ser leve em alguns casos) e insuficiência pancreática (Mickle & Cutting, 2000).

A identificação de mutações relacionadas à FC é realizada através de estudos genéticos e pode contribuir para o diagnóstico dos pacientes com resultados dos testes do suor duvidosos e também para estabelecimento prognóstico em indivíduos nas formas clássicas (Denning et al., 1980). Além disso, mais recentemente, o estudo das mutações pode permitir a utilização de drogas que visem à correção do defeito no CFTR.

O gene que causa FC está localizado no braço longo do cromossomo 7 (*locus* 7q31) e sua identificação ocorreu por técnicas de clonagem posicional, em 1989. O CFTR compreende aproximadamente 190 Kb de DNA genômico e está dividido em 27 éxons. Esse gene é transcrito em um mRNA maduro de 6,5 Kb cuja tradução dá origem a uma proteína composta por 1.480 aminoácidos com peso molecular de 168 KDa (Saraiva-Pereira et al., 2011).

O gene CFTR é composto por 250.000 pares de bases. Atualmente, são conhecidas mais de 1.900 mutações relacionadas à FC (*Cystic Fibrosis Mutation Database*). A  $\Delta F508$  se caracteriza pela deleção de três pares de bases no éxon 10 do gene, correspondente ao códon 508 (fenilalanina) da proteína. Em caucasianos, essa mutação ocorre em cerca de 70% dos pacientes com FC (Okay et al., 2005). No entanto, tem sido apontado que sua frequência varia significativamente entre os diferentes grupos étnicos desde 26% na Turquia até 88% na Dinamarca (Okay et al., 2005).

As mutações G542X, G551D e N1303K são habitualmente encontradas em diferentes regiões a depender de suas características étnicas e geográficas. Na América Latina, as mutações G542X, N1303K, W1282X e R1162X são as comuns, além da  $\Delta F508$  cuja frequência varia desde 23% na Costa Rica até 59% na Argentina (Perone et al., 2010).

A incidência da doença, bem como a frequência da mutação mais comum, a  $\Delta F508$ , refletem antigos processos de expansão demográfica e migratória (Pérez et al., 2006). Possivelmente, isso seja uma vantagem seletiva de portadores heterozigotos. Estudos de haplótipos estendidos sugerem que a  $\Delta F508$  e algumas outras mutações comuns tenham se originado entre 11.000 e 34.000 anos atrás, em uma população geneticamente diferente de qualquer grupo atual europeu e se espalhou para diferentes áreas daquele continente. Além disso, algumas mutações foram eventos da deriva genética o que explicaria as elevadas frequências regional e local na Europa (Perez et al., 2006).

A América Latina e o Caribe tornaram-se, nos últimos 500 anos, um caldeirão de diferentes etnias. Muitos países têm uma forte herança ameríndia miscigenada com europeus. Por outro lado, em alguns países como Brasil, Colômbia e Cuba, a população predominante em determinadas regiões é de afrodescendentes (Pérez et al., 2006). A crença de que a FC era uma doença tipicamente de populações descendentes de europeus e do norte anglo-saxônico dificultou por muito tempo o diagnóstico em pacientes da América Latina. Assim, a partir dos anos 1960 a doença começou a ser estudada na Argentina e, posteriormente, em outros países incluindo o Brasil (Pérez et al., 2006).

O Brasil, com suas dimensões continentais e sua diversidade étnica, apresenta uma situação peculiar para a FC. Estudos realizados em cinco Estados das regiões Sul e Sudeste encontraram uma incidência média estimada para a FC de cerca de 1:9.600 nascimentos (Araújo et al., 2005). No Estado do Rio Grande do Sul (RS) foram observadas frequências mais elevadas variando de 1:1.600 nascimentos a 1:6.700 nascimentos. Isto sugere que um em cada 20 habitantes daquele Estado seja heterozigoto para um gene alterado da FC. Além disso, a cada 400 casais, um é composto por mãe e pai heterozigotos (Araújo et al., 2005).

O estudo de Raskin et al., (2008) observou incidência variável da FC em distintas regiões do Brasil alcançado 1 em 1.587 nascidos vivos no RS até 1 a 32.258 em São Paulo (SP). Por outro lado, a diferença de frequência de portadores de mutação é mais modesta, a partir de cerca de 1 em 90 em SP para 1 em 20 no RS.

Na maioria das regiões brasileiras a população é bastante heterogênea, com alta taxa de miscigenação, conseqüentemente, há alta heterogeneidade alélica do gene

CFTR, sendo que a frequência das mutações é variável em diferentes Estados (Saraiva-Pereira et al., 2011). A  $\Delta F508$  apresenta nos Estados do PR, SC, RS, SP e MG frequências que variam de 45,5% até 50%, enquanto no Rio de Janeiro e Pará, observam-se frequências de 28,4% e 22,7%, respectivamente (Saraiva-Pereira et al., 2011; Araújo et al., 2005). A análise de 386 cromossomos de pacientes nascidos nos Estados do PR, SC e MG, para a pesquisa de 70 mutações, mostraram que 14 foram exclusivas de Euro-brasileiros enquanto que nenhuma foi específica de afro-brasileiros. A  $\Delta F508$  estava presente em 47,1% dos 310 alelos investigados na população de ascendência europeia e em 10,5% dos 76 alelos dos indivíduos afrodescendentes (Raskin et al., 2003).

A  $\Delta F508$  e outras quatro mutações comuns: G542X, G551D, N1303K e R553X, representam cerca de 60% dos alelos de FC no Brasil, embora possam ocorrer pequenas variações dependendo da área geográfica (Faucz et al., 2007). A estimativa média de frequência da  $\Delta F508$  calculada para cinco populosos Estados brasileiros é de cerca de 50%. Apesar de grandes variações étnicas entre as diferentes regiões brasileiras, as mutações G542X, N1303K e R1162X são as mais frequentemente observadas após a  $\Delta F508$  (Faucz et al., 2007).

Segundo dados do Censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), em 2010, as populações negra e parda passaram a ser maioria no Brasil e corresponderam a 50,7% de brasileiros. Na Bahia, com sua elevada taxa de miscigenação entre brancos e negros, encontram-se sete das dez cidades com maior concentração de negros do país em termos relativos. A capital, Salvador, é composta por quase 750.000 de negros, ou seja, 27,8% de sua população total. Por se tratar de uma doença que afeta, preferencialmente, indivíduos caucasianos estima-se que a incidência de FC na população baiana seja menor quando comparada com a de outros Estados do Brasil, porém este dado ainda não foi comprovado, devido a não realização rotineira de triagem neonatal para a doença. Em estudo realizado, em 2007, com 503 indivíduos da população geral de Salvador, encontraram-se apenas quatro heterozigotos para  $\Delta F508$  com frequência alélica de 0,4%. Esta mesma pesquisa avaliou 144 pacientes com FC de um centro de referência de Salvador, detectando-se a mutação  $\Delta F508$  em 25 cromossomos (oito homozigotos e nove heterozigotos), ou seja, frequência alélica total de 8,6% (Costa et al., 2007).



O fenótipo da FC é altamente heterogêneo, indicando uma complexa interação de diferentes fatores na determinação da gravidade da doença como a presença de mutações no gene CFTR com diferentes efeitos na proteína, genes modificadores e efeitos ambientais (Saraiva-Pereira et al., 2011). As mutações no gene CFTR são classificadas em seis diferentes classes a depender da alteração na função da proteína: classe I - ausência de síntese; classe II – alteração do processamento; classe III – bloqueio na regulação do canal de cloreto; classe IV – alteração do transporte de íons cloreto; classe V – redução da síntese da proteína e classe VI – perda da sua capacidade de regular outros canais (Saraiva-Pereira et al., 2011; Ribeiro et al., 2007; Cutting & Zeitlin, 2006; Mickle & Cutting, 2000).

As mutações graves em que a proteína CFTR funcional está ausente correlacionam-se principalmente com insuficiência pancreática, início precoce dos sintomas, altos níveis de íons cloreto no suor e infertilidade masculina (Saraiva-Pereira et al., 2011). A correlação entre a associação da mutação  $\Delta F508$  do CFTR e o diagnóstico mais precoce da doença sugerem que essa mutação se associe a sintomas de maior gravidade ou os torna mais persistentes, contribuindo para que esses pacientes busquem acompanhamento médico mais cedo na infância (Lima et al., 2011).

A proteína CFTR também pode funcionar como um neuromodulador e sinalizador celular mediando o fluxo de glutatona através da hidrólise do ATP, além de ser importante para a regulação da reciclagem de membrana dependente de cAMP indicando que mutações no CFTR podem induzir também disfunções no sistema nervoso central (Saraiva-Pereira et al., 2011).

No Nordeste brasileiro, são escassos os estudos sobre a FC. A determinação das mutações contribui para o diagnóstico, pois muitas vezes o teste do suor apresenta resultados normais ou duvidosos, tem valor prognóstico para as mutações associadas a alterações mais graves no CFTR e, mais recentemente, pode colaborar para a utilização de terapêutica direcionada ao defeito básico. A pesquisa de mutações da FC em população com alto grau de miscigenação, como ocorre no Estado da Bahia, poderá permitir uma melhor compreensão desta doença no Brasil.

## **IV. OBJETIVOS**

### **III. 1. Objetivo Geral**

Determinar a prevalência da mutação  $\Delta F508$  nos pacientes com fibrose cística atendidos no Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos.

### **III. 2. Objetivos Específicos**

1. Identificar a média de idade no momento do diagnóstico da doença;
2. Avaliar o tempo médio entre o início dos sintomas e confirmação do diagnóstico;
3. Pesquisar associação entre a presença da mutação  $\Delta F508$  e as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes;
4. Correlacionar média de idade de início dos sintomas da doença com a mutação  $\Delta F508$ .

## **V. METODOLOGIA**

### **V. 1. Campo do Estudo**

O estudo ocorreu no Complexo Hospitalar Professor Edgard Santos (Complexo HUPES) da Universidade Federal da Bahia, na cidade de Salvador, Bahia.

### **V. 2. Período do Estudo**

Os prontuários foram revisados entre os meses de janeiro a junho de 2013. A coleta do sangue e a realização do teste genético ocorreram entre os meses de maio a julho de 2013.

### **V. 3. Modelos do Estudo**

Foi realizado um estudo de corte transversal.

### **V. 4. Aspectos Éticos**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, sob o número 121/2011 (Anexo I).

### **V. 5. População**

A população estudada foi composta por pacientes portadores de fibrose cística de 0 a 20 anos, acompanhadas no Ambulatório Multidisciplinar de Fibrose Cística do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA.

### **V. 6. Critérios de Inclusão**

- Pacientes com diagnóstico confirmado de FC com elevação de cloro no suor em duas amostras;
- Pacientes com resultados dos testes do suor duvidosos ou normais, mas que preenchiam os critérios da CFF;
- Realização da pesquisa da mutação  $\Delta F508$ ;

- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pela mãe ou outro responsável pela criança e, quando possível, pelo próprio paciente (Anexo II).

#### **V. 7. Critérios de Exclusão**

- Não realização do estudo genético
- Não assinatura do TCLE pelos responsáveis.

#### **V. 8. Tamanho da Amostra**

Não foi feito cálculo do tamanho amostral, pois se tratava de amostra de conveniência. Atualmente, 52 pacientes com FC são acompanhados no Complexo HUPES.

#### **V. 9. Protocolo do Estudo**

Os responsáveis pelos pacientes com diagnóstico de FC atendidos no Complexo HUPES foram informados do estudo e aqueles que concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido foram incluídos na pesquisa.

Com a adesão do paciente e/ou responsável ao estudo, foi preenchido o questionário de admissão (Anexo III), por um dos pesquisadores, com as informações presentes no prontuário, avaliando os seguintes dados: história clínica, sinais e sintomas mais marcantes antes do diagnóstico, terapêutica adotada, achados do exame físico e resultados de exames complementares realizados. Após a inclusão no estudo, foi realizada coleta de 1,0 mL de sangue periférico para pesquisa de mutações relacionadas à FC. O material foi estocado em geladeira no Complexo HUPES e, posteriormente, encaminhado ao Laboratório de Genética Humana e Mutagênese localizado no Instituto de Biologia da UFBA. O transporte do material foi feito à temperatura ambiente e, no laboratório, foi novamente armazenado em geladeira até a realização do exame. Foi pesquisada a mutação  $\Delta F508$ .

Para pesquisa da mutação, foram realizados os seguintes procedimentos:

##### **a) Obtenção do DNA genômico**

O DNA foi extraído a partir do sangue periférico utilizando o *kit Genomic Wizard* (Promega) seguindo todas as recomendações do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas e qualificadas através de leitura em espectrofotômetro.

## b) Análise Molecular

Para a detecção da mutação  $\Delta F508$  foram utilizadas as técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), eletroforese em gel de agarose e poliacrilamida para detecção de Polimorfismo Conformacional de Fita Simples (SSCP).

### Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A realização da PCR segue o protocolo exposto no quadro 2.

Quadro 2. Protocolo da Reação em Cadeia de Polimerase.

EXÓN / Mutação	ddH <sub>2</sub> O	Tampão 10x	DNTPs	MgCl <sub>2</sub> 50mM	Primers (20ng/ $\mu$ l)	Taq (5U/ $\mu$ l)	DNA	Programas	Ciclos	Sequencias dos Primers
10 ( $\Delta F508$ )	1,7 $\mu$ l	1,0 $\mu$ l	1,0 $\mu$ l - 10mM	0,8 $\mu$ l	0,15 $\mu$ l	0,2	5,0 $\mu$ l	94°C / 1'	35X	F: GTT TTC CTG GAT TAT GCC TGG CAC
								56°C / 45"		R: GTT GGC ATG CTT TGA TGA CGC TTC
								72°C / 1'		
								72°C / 10'		

### Eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 8% não desnaturante

Após a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida pela técnica de SSCP. Após a eletroforese o gel foi corado com nitrato de prata, fotografado e os fragmentos em pares de base (pb) foram analisados.

## V. 10. Análise Estatística

Os dados obtidos foram registrados em questionário padrão e armazenados em um banco de dados no programa *Microsoft Access*. Para análise estatística, foi utilizado o programa *Epidata*. A análise descritiva foi realizada através do cálculo da média, mediana e frequências simples e relativas das variáveis estudadas.

## VI. RESULTADOS

Foram coletados dados clínicos retrospectivos envolvendo o período entre março de 2005 a maio de 2013 e realizada pesquisa da mutação  $\Delta F508$  entre maio a julho de 2013. Entre janeiro e junho de 2013 foram incluídos 39 pacientes no estudo. Todos foram submetidos à realização do teste genético para detecção da mutação  $\Delta F508$ . Foram excluídos três pacientes cujo resultado do teste genético não estava disponível e um por apresentar idade superior a 20 anos. Além disso, nove indivíduos não preencheram os critérios diagnósticos propostos pela CFF. Destes, seis foram excluídos. Os demais foram incluídos, porque dois apresentavam infecção por *Pseudomonas aeruginosa* cepa mucoide e um por demonstrar uma mutação  $\Delta F508$ , apresentar achados clínicos compatíveis com a doença e significativa melhora dos sintomas após o início da utilização das enzimas pancreáticas.

Entre os pacientes incluídos no estudo 20 (51,3%) são procedentes de Salvador - BA e Região Metropolitana, 18 (46,1%) são do interior do Estado da Bahia e apenas um (2,6%) é procedente de outro Estado. Com relação ao grupo racial, apenas um (2,6%) paciente não é afrodescendente. A média de idade dos pacientes na admissão do estudo foi de  $9,0 \pm 5,8$  anos com mediana de 7,7 anos, sendo 20 (51,3%) do sexo masculino.

A mutação  $\Delta F508$  foi observada em 13 pacientes (33,3%). Destes, cinco (38,4%) foram homozigotos e oito (61,6%) heterozigotos. Com relação aos alelos, foram observados 18 portadores (18/78 ou 23%) e 60 não portadores (60/78 ou 77%). Entre os heterozigotos dois são irmãos. Outros dois irmãos incluídos apresentaram resultado negativo para  $\Delta F508$ .

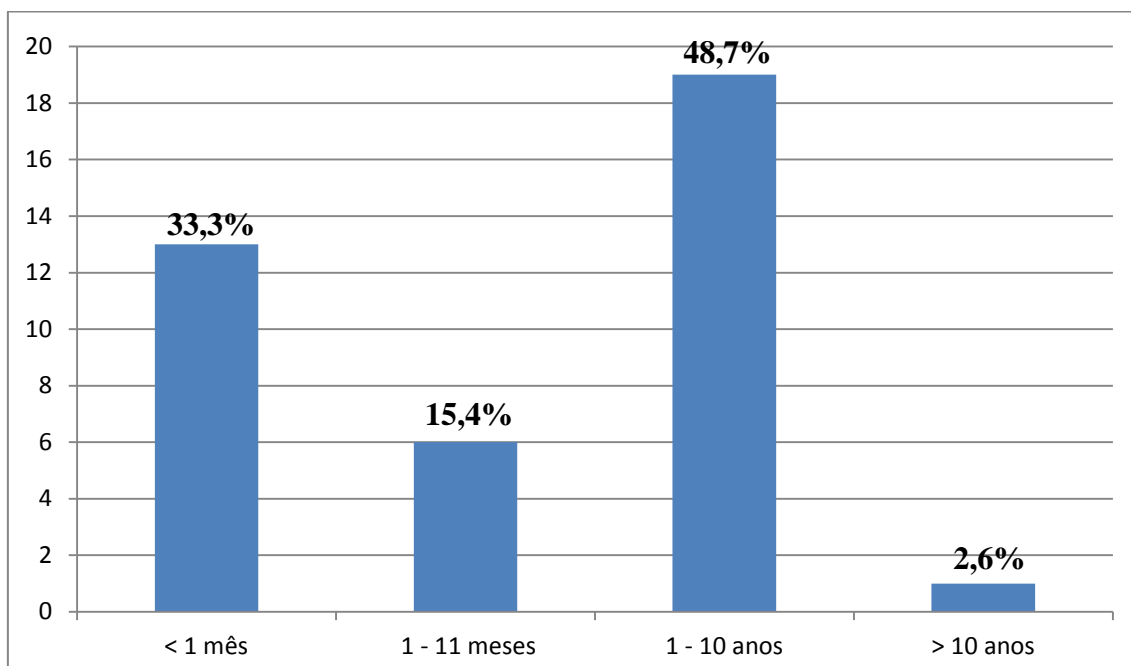
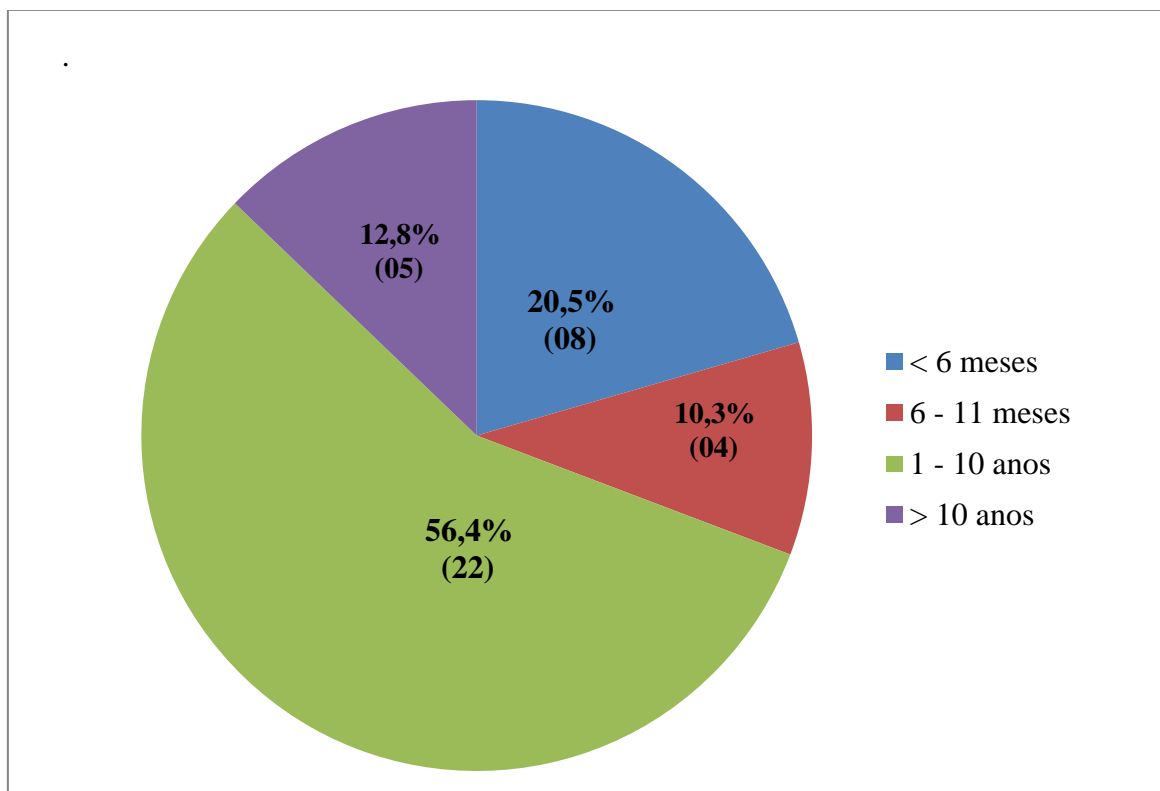
A média de idade no momento do diagnóstico foi de  $5,9 \pm 5,2$  anos com mediana de 4,7 anos, sendo que o diagnóstico mais precoce ocorreu no primeiro mês de vida e o mais tardio aos 18 anos. Onze (28,2%) pacientes tiveram diagnóstico confirmado antes de completarem o primeiro ano de vida, enquanto que em 10 (25,6%) o mesmo ocorreu somente após a primeira década de vida.

O menor intervalo de tempo para início dos sintomas foi o primeiro mês de vida, sendo que 13 (33,3%) crianças tiveram sintomatologia iniciada nessa fase. Um paciente (2,6%) só teve sintomas da doença após os 10 anos. O Gráfico 1 apresenta a distribuição dos pacientes por faixa etária de início dos sintomas da doença.

Na amostra estudada, o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de  $4,5 \pm 4,0$  anos, com mediana de 4,0 anos. Como demonstrado no Gráfico 2, apenas 30,8% dos pacientes tiveram diagnóstico até 12 meses do início dos sintomas, enquanto em 12,8% dos indivíduos este tempo foi superior a 10 anos, evidenciando que o diagnóstico ocorreu tardiamente.

Todos os pacientes acometidos pela mutação  $\Delta F508$  iniciaram sintomatologia até o sexto mês de vida. O tempo médio de início dos sintomas nestes pacientes foi de  $1,5 \pm 1,4$  meses, com mediana de um mês, demonstrando que os mesmos ocorreram precocemente. Em 10 (76,9%) indivíduos deste subgrupo os sintomas surgiram ainda no primeiro mês de idade.

As principais manifestações clínicas observadas na amostra foram: sintomas respiratórios, insuficiência pancreática, dificuldade de ganho ponderal e esteatorreia. Neste estudo foram considerados como portadores de insuficiência pancreática aqueles indivíduos que estavam fazendo uso de enzimas pancreáticas, pois para confirmação deste sintoma é necessária realização de exames complementares que, muitas vezes, não estão disponíveis neste serviço. A colonização do trato respiratório por *P. aeruginosa* é considerada importante fator prognóstico associando-se a maior morbimortalidade da doença. A tabela 1 correlaciona a associação entre a FC e as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes de acordo com a presença ou não da mutação  $\Delta F508$ .

**Gráfico 1.** Número de pacientes por faixa etária de início dos sintomas da doença.**Gráfico 2.** Tempo médio (N e %) entre o início dos sintomas e a confirmação do diagnóstico.



**Tabela 1.** Frequência de manifestações clínicas da FC, no momento do diagnóstico, de acordo com a presença ou não da mutação  $\Delta F508$ .

	$\Delta F508 +$ (%)	$\Delta F508 -$ (%)	<b>Total</b> (%)
<b>Sintomas Respiratórios</b>	11/13 (84,6)	26/26 (100)	37/39 (94,9)
<b>Insuficiência Pancreática</b>	13/13 (100)	24/26 (92,3)	37/39 (94,9)
<b>Dificuldade de ganho ponderal</b>	12/13 (92,3)	13/26 (50)	25/39 (64,1)
<b>Colonização do trato respiratório por <i>P. aeruginosa</i></b>	6/13 (46,1)	12/26 (46,1)	18/39 (46,1)
<b>Esteatorreia</b>	8/13 (61,5)	10/26 (38,4)	18/39 (46,1)

## VII. DISCUSSÃO

No momento do diagnóstico, a média e a mediana de idade na amostra estudada foram, respectivamente, 5,9 e 4,7 anos. Estes resultados são superiores aos obtidos pelo Registro Brasileiro de FC de 2009, no qual a média foi 5,3 e a mediana 1,4 anos e também mais elevados que os registros americanos, onde a média foi 2,9 anos, com mediana de apenas cinco meses (CFF). Essas discrepâncias podem ser explicadas pelo fato de o Brasil apresentar a triagem neonatal para a FC pouco abrangente, o que dificulta o diagnóstico precoce, além de baixo grau de suspeição clínica pelos pediatras, desde que, como demonstrado por este estudo, muitos pacientes apresentam sintomatologia ainda no primeiro mês de vida. Aliado a isso, somente este ano se iniciou a triagem neonatal para FC na Bahia. Provavelmente, a realização rotineira deste exame possibilitará o diagnóstico mais precoce neste Estado.

No Brasil, a frequência média da mutação  $\Delta F508$  é de 47%, podendo variar de acordo com a região geográfica (Raskin et al., 2003). A frequência de 33,3% neste trabalho é inferior à média nacional e isso deve ser explicado pelo fato da maioria dos estudos sobre FC no Brasil ter sido realizada em populações com maior ascendência europeia como nas regiões Sul e Sudeste. A ocorrência da mutação  $\Delta F508$  também foi menor que a encontrada nos países europeus ou do norte anglo-saxônico nos quais pode atingir 70% dos indivíduos com FC (Okay et al., 2005), pois suas populações são constituídas, principalmente, por caucasianos. Por outro lado, os resultados do presente estudo demonstraram frequência de mutação  $\Delta F508$  superior à observada em Belém que detectou 22,7% entre 33 pacientes avaliados (Araújo et al., 2005). A amostra analisada neste estudo foi constituída, quase integralmente, por indivíduos afrodescendentes o que pode explicar a frequência encontrada, que se aproxima da estimada para uma população com essa característica étnica que é de 37% como demonstraram Hamosh et al., 1998.

Entretanto, a frequência alélica (23%) deste estudo foi superior àquela de 8,6%, observada em estudo prévio realizado na Bahia por Costa et al., 2007. A maior frequência encontrada na presente pesquisa pode relacionar-se com a idade dos pacientes, uma vez que se trata de crianças ou adolescentes, demonstrando sintomatologia mais precocemente, o que deve refletir maior gravidade da doença e, por conseguinte, maior ocorrência de mutações mais graves com a  $\Delta F508$ . Embora a

mediana de idade da população estudada por Costa et al., ter sido inferior a do presente estudo, foram incluídos adultos de até 78 anos. É importante destacar também que o pequeno tamanho da amostra deste estudo, comparado ao trabalho de Costa et al., pode contribuir para a discrepância entre os resultados observados em populações etnicamente semelhantes. A utilização dos critérios da CFF, com a inclusão apenas de pacientes com teste do suor positivo, também pode contribuir para a maior frequência alélica da  $\Delta F508$  neste estudo, pois indivíduos com formas atípicas podem ter teste do suor normal, o que, habitualmente, não ocorre com os acometidos por esta mutação.

Os sintomas da FC são variáveis. Na forma clássica, em que o nível de cloro no suor é acima de 60 mmol/L, os pacientes manifestam sintomas principalmente relacionados ao pâncreas, trato respiratório superior e inferior e trato reprodutivo masculino (UpToDate, 2013). Nos Estados Unidos, Gibson et al., 2003 identificaram que a maioria dos diagnósticos clínicos foram baseados em sintomas respiratórios (43,8%), déficit de crescimento (29,3%), esteatorreia (24,4%) e íleo meconial (18,5%). Em concordância com a literatura, as principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes deste estudo foram: sintomas respiratórios, insuficiência pancreática, esteatorreia e dificuldade de ganho ponderal. A infecção por *P. aeruginosa* representou uma importante manifestação apresentada pelos pacientes durante o acompanhamento.

A tentativa de se estabelecer correlação entre a mutação analisada e os sintomas clínicos apresentados pelos pacientes não foi conclusiva. No entanto, todos os 13 pacientes acometidos pela mutação  $\Delta F508$  tinham insuficiência pancreática, sendo, no total, encontrada em 94,9% dos indivíduos. King et al., 2005 encontraram este sintoma em 88% dos pacientes analisados numa amostra com 88 indivíduos, sendo que todos os homozigotos (46%) para  $\Delta F508$  tinham insuficiência pancreática. Os resultados deste estudo estão de acordo com os descritos na literatura, pois este sintoma representa a complicação gastrointestinal mais comum da FC, principalmente em homozigotos para esta mutação.

A pesquisa da mutação  $\Delta F508$  no Brasil tende a apresentar resultados inferiores aos encontrados em outros países cuja população é composta majoritariamente por caucasianos. Isto pode ser atribuído ao fato do nosso país apresentar um elevado grau de miscigenação, particularmente no Estado da Bahia. Estes dados fortalecem a necessidade da investigação de outras mutações da FC no país.

As limitações do presente estudo são o pequeno tamanho da amostra, a obtenção de dados clínicos retrospectivos e a pesquisa de uma única mutação genética. Entretanto, o trabalho permitiu conhecer o perfil clínico-epidemiológico e determinar a prevalência da mutação  $\Delta F508$  em uma população altamente miscigenada.

## VIII. CONCLUSÕES

1. A prevalência da mutação  $\Delta F508$  foi de 33,3%;
2. A frequência alélica da mutação  $\Delta F508$  foi de 23%;
3. A média de idade no momento do diagnóstico da doença foi de 5,9 anos;
4. O tempo médio entre o início dos sintomas e a confirmação do diagnóstico foi de 4,5 anos;
5. Todos os pacientes com a mutação  $\Delta F508$  apresentaram insuficiência pancreática;
6. Pacientes acometidos pela mutação  $\Delta F508$  apresentaram sintomatologia precoce.

## IX. SUMMARY

**Prevalence of  $\Delta F508$  mutation among patients with cystic fibrosis in a highly admixed population of Northeast Brazil.** *Introduction:* Cystic Fibrosis (CF) is an inherited autosomal recessive disease, potentially lethal and caused by mutations in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) protein. There are more than 1,900 mutations associated with this disease, and the  $\Delta F508$  mutation is the most common in Caucasians. *Objective:* To determine the prevalence of  $\Delta F508$  mutation in CF patients followed up at the Professor Edgard Santos School Hospital Complex. *Methodology:* It was conducted a cross sectional study. The population studied was composed of CF patients, from 0 to 20 years. After inclusion in the study, patients underwent blood sampling to investigate  $\Delta F508$  mutation. *Results:* Thirty-nine patients were included, with a mean age of  $9.0 \pm 5.9$  years, median of 7.7 years, and 20 (51.2%) were male. The  $\Delta F508$  mutation was found in 13 patients (33.3%). Of those, five (38.4%) were homozygotes and eight (61.6%) were heterozygotes. Regarding the alleles, there were 18 carriers (18/78 or 23%) and 60 non-carriers (60/78 or 77%). *Conclusions:* The frequency of the  $\Delta F508$  mutation is lower than that found in populations from Brazilian Southeast. The diagnosis was delayed and patients with the  $\Delta F508$  mutation had symptoms with early onset and presented pancreatic insufficiency.

*Keywords:* 1. Cystic fibrosis - Children 2. Gene - CFTR 3. Mutation.

## X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Araújo FG, Novaes FC, Santos NPC, Martins VC, Souza SM, Santos SEB, et al. Prevalence of  $\Delta F508$ , G551D, G542X, and R553X mutations among cystic fibrosis patients in the North of Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38(1):11-5.
2. Costa FMM, Santana MA, Lemos ACM, Acosta AX. Low frequency of the  $\Delta F508$  mutation of the CFTR gene in a highly admixed population in Bahia, Brazil. *Hum Biol.* 2007; 79(3):293-8.
3. Cutting GR, Zeitlin PL. *Genetics and pathophysiology of cystic fibrosis*. In: Chernick V, Boat TF, Wilmott RW, et al. *Kendig's disorders of the respiratory tract in children*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006; 848-60.
4. Cystic Fibrosis Foundation [homepage na internet]. Testing for cystic fibrosis [acesso em 17/03/2013]. Disponível em: [www.cff.org](http://www.cff.org)
5. Cystic Fibrosis Mutation Database [homepage na internet]. Statistics [acesso em 17/03/2013]. Disponível em: [www.genet.sickkids.on.ca](http://www.genet.sickkids.on.ca)
6. Denning CR, Huang NN, Cuasay LR, Shwachman H, Tocci P, Warwick WJ, et al. Cooperative study comparing three methods of performing sweat tests to diagnose cystic fibrosis. *Pediatrics.* 1980; 66(5):752-7.
7. Farrel 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(2):4-14.
8. Faucz FR, Gimenez J, Ramos MD, Pereira-Ferrari L, Estivill X, Raskin S, et al. Cystic fibrosis in a southern Brazilian population: characteristics of 90% of the alleles. *Clin Genet.* 2007; 72(3):218-23.
9. Firmida MC, Lopes AJ. Aspectos epidemiológicos da fibrose cística. *Revista HUPE.* 2011; 10(4):12-22.

10. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168(8):918-51.
11. Hamosh A, Fitzsimmons SC, Macek M Jr, Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr.* 1998; 132(2):255–9.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas [homepage na internet]. Características da população e dos domicílios do Censo Demográfico 2010 [acesso em 28/05/2013]. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)
13. King SJ, Topliss DJ, Kotsimbos T, Nyulasi IB, Baylei M, Ebeling PR, et al. Reduced bone density in cystic fibrosis: DF508 mutation is an independent risk factor. *Eur Respir J.* 2005; 25(1): 54–61.
14. Lima CSP, Ortega MM, Marson FAL, Zulli R, Ribeiro AF, Bertuzzo CS. Mutações do gene cystic fibrosis transmembrane conductance regulator e deleções dos genes glutationa S-transferase em pacientes com fibrose cística no Brasil. *J Bras Pneumol.* 2012; 38(1):50-6.
15. Mickle JE, Cutting GR. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Med Clin North Am.* 2000; 84(3):597-607.
16. Milagres L, Garcia D, Castro T, Tavares K, Leão R, Folescu T, et al. Infecção pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* na fibrose cística: diagnóstico sorológico e conduta. *Pediatrics.* 2008; 30(1):56-65.
17. Okay TS, Oliveira WP, Raiz-Júnior R, Rodrigues JC, Del Negro GMB. Frequency of the  $\Delta F508$  mutation in 108 cystic fibrosis patients in São Paulo: comparison with reported Brazilian data. *Clinics.* 2005; 60(2):131-4.
18. Pérez MM, Luna MC, Pivetta OH, Keyeux G. CFTR gene analysis in Latin American CF patients: Heterogeneous origin and distribution of mutations across the continent. *J Cyst Fibros.* 2006; 6(3):194–208.



19. Perone C, Medeiros GS, Castillo DM, Aguiar MJB, Januário JN. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Braz J Med Biol Res.* 2010; 43(2):134-8.
20. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of  $\Delta F508$ , mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros.* 2008; 15–22.
21. Raskin S, Pereira L, Reis F, Rosário NA, Ludwig N, Valentim L, et al. High allelic heterogeneity between Afro-brazilians and Euro-brazilians impacts cystic fibrosis genetic testing. *Genet Test.* 2003; 7(3):213-8.
22. Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2003; 361(9358):681–9.
23. Ribeiro JD, Ledwig Neto N, Ribeiro AF, Camargo PAM. *Fibrose Cística*. In: Lopez FA, Campos Júnior D. *Tratado de Pediatria*. São Paulo: Manole; 2007;1:1845-57.
24. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis. A consensus statement. *J Pediatr.* 1998; 132(4):589-95.
25. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Mechanisms of disease Cystic Fibrosis. *N Engl J Med.* 2005; 352(19):1992-2001.
26. Saraiva-Pereira ML, Fitarelli-Kieh M, Sanseverino MTV. A Genética na Fibrose Cística. *Rev HCPA.* 2011; 31(2):160-7.
27. UpToDate [homepage na internet]. Cystic fibrosis: Genetics and pathogenesis [acesso em 07/03/2013]. Disponível em: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
28. Wallis C. Diagnosing cystic fibrosis. Blood, sweat, and tears. *Arch Dis Child.* 1997; 76:85-8.

## XI. ANEXOS

### Anexo I - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

#### Parecer Consubstanciado de Projeto

Título do Projeto: Estudo Clínico-epidemiológico da fibrose cística em um centro universitário de referência em Salvador-BA.

Pesquisador Responsável : Edna Lúcia Santos de Souza

Data da Versão 31/05/2012

Cadastro 121

Data do Parecer 05/06/2012

Grupo e Área Temática I.1 Genética Humana

#### Objetivos do Projeto

Descrever os dados clínico-epidemiológicos da fibrose cística entre as crianças diagnosticadas no CPPHO entre 2005 e 2011 e observar sua evolução no período de um ano após admissão no estudo. Objetivos específicos: 1) Identificar a idade no diagnóstico; 2) Determinar as principais manifestações clínicas; 3) Identificar idade do início dos sintomas, determinando o tempo entre este e o diagnóstico; 4) Avaliar a função pulmonar em crianças > 5 anos; 5) Pesquisar a ocorrência de colonização bacteriana do TR, 6) Determinar o escore de Shwachman a época do diagnóstico, da admissão do estudo e após um ano de acompanhamento; 6) Pesquisar a ocorrência das principais mutações genéticas relacionadas a FC nos estudados e 7) Determinar o estado nutricional do paciente no diagnóstico, admissão no estudo e após um ano de acompanhamento.

#### Sumário do Projeto

Estudo ambispectivo programado de março 2011 a março de 2013, com pacientes de 0 a 20 anos matriculado no Serviço de Pneumologia Pediátrica do COM-HUPES, com diagnóstico de FC obtido por 2 testes do suor positivos e/ou com sintomas sugestivos da doença que preencham critérios clínicos pré-estabelecidos. Estima-se cerca de 50 pacientes incluídos. Haverá coleta de dados clínicos, epidemiológicos e sangue para exames de rotina e estudo genético das mutações mais relacionadas a FC e acompanhamento dos dados antropométricos e clínicos até um ano após a inclusão do paciente no estudo.

Aspectos relevantes para avaliação	Situação
Título	Adequado
Relação dos Pesquisadores	Adequada
Local de Origem na Instituição	Adequado
Projeto elaborado por patrocinador	Não
Local de Realização	Própria instituição
Outras instituições envolvidas	Não
Condições para realização	Adequadas
Introdução	Adequada
Objetivos	Adequados
Método	
Tipo de projeto	Pesquisa em Seres Humanos
Delineamento	Adequado
Tamanho de amostra	Total 50 Na Instituição 50
Cálculo do tamanho da amostra	Não calculado
Participantes pertencentes a grupos especiais	Menores de 18 anos
Seleção equitativa dos indivíduos participantes	Adequada
Crterios de inclusão e exclusão	Adequados
Relação risco- benefício	Adequada
Uso de placebo	Não utiliza
Período de suspensão de uso de drogas (wash out)	Não utiliza
Monitoramento da segurança e dados	Adequado
Armazenamento de material biológico	Comentário
Instrumentos de coleta de dados	Adequados
Avaliação dos dados	Adequada - quantitativa
Privacidade e confidencialidade	Adequada
Termo de Consentimento	Adequado

Adequação às Normas e Diretrizes	Sim
Cronograma	Adequado
Data de início prevista	0312
Data de término prevista	0313
Orçamento	Adequado
Solicita recursos à instituição	Não
Fonte de financiamento externa	Não Informado
Referências Bibliográficas	Adequadas

Recomendação

<b>Aprovar</b>
----------------

## Comentários Gerais sobre o Projeto

O presente projeto foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa, após as modificações realizadas pela pesquisadora, mediante considerações deste CEP.

## Informações ao Pesquisador:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em 15/12/2012 e ao término do estudo.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

**Projeto Aprovado.**

  
 ROBERTO BADARÓ, MD PHD

## Anexo II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



### ANEXO II

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E PRÉ-ESCLARECIDO

##### Estudo clínico-epidemiológico da fibrose cística em um centro universitário de referência em Salvador, BA

Você está sendo convidado (a) a permitir a participação do seu filho(a) em uma pesquisa. Antes de decidir participar, é importante que entenda o porquê a pesquisa está sendo realizada e o que ela envolve. Por favor, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes. Pergunte-nos se houver qualquer coisa que não esteja clara ou se você precisar de mais informações. Utilize o tempo que for necessário para decidir se deseja participar do estudo.

O estudo dedica-se a descrever os dados clínicos – epidemiológicos dos pacientes acompanhados no ambulatório de fibrose cística no CPPHO durante o período de maio de 2012 a maio de 2013.

Serão convidados os pacientes que apresentam o diagnóstico da fibrose cística. Seu filho (a) pode ou não participar da pesquisa. Se quiser participar, você deverá assinar este formulário, e se possível seu filho também assinará, sendo que este deve ser preenchido em duas vias, uma que ficará em poder do responsável pela pesquisa, e outra que será mantida com você. Se decidir participar, mas mudar de idéia durante a pesquisa, você poderá sair a qualquer momento sem se desculpar. Isto não afetará o cuidado e a atenção que seu médico tem dado a seu filho (a).

O estudo ocorrerá durante a consulta do paciente, será realizada uma entrevista ao paciente e ao acompanhante, bem como a utilização dos dados presentes no prontuário do paciente.

O estudo será dividido em 2 partes: na primeira etapa serão coletados os dados do paciente como: idade ao diagnóstico, idade de início dos sintomas, principais sintomas, sexo, tratamentos já realizados, alterações no raio x de tórax ou na tomografia do tórax, presença de microorganismos na cultura do escarro etc. Na segunda etapa, serão preenchidas fichas após 6 e 12 meses, em que serão anotadas as alterações ocorridas nestes períodos, como alteração no raio x de tórax, presença de bactérias no escarro, uso das medicações, necessidade de hospitalização entre outros mediante consulta do prontuário do paciente.

Se você concordar em participar deste estudo, será a coletada uma amostra de sangue do antebraço do seu filho (a), com uma agulha nova e descartável, após assepsia local (limpeza). A coleta poderá gerar um desconforto ao paciente. A amostra de sangue será enviada ao Laboratório de Genética Humana e Mutagênese do Instituto de Biologia da UFBA, sob a responsabilidade da profa. Renata Lima, onde haverá extração de DNA (material genético) que será utilizado para a pesquisa de mutações genéticas relacionadas com a fibrose cística. Conhecer a mutação genética em cada paciente com fibrose cística pode ajudar a entender melhor a doença em cada pessoa. Está sendo solicitada a sua permissão para estocagem da amostra de DNA do seu filho (a) no Laboratório de Genética Humana e Mutagênese do Instituto de Biologia da UFBA. Se assinar este termo de consentimento, você está autorizando estocagem em longo prazo da amostra de DNA. A amostra de DNA será mantida indefinidamente. Isto significa que a amostra não será destruída após um determinado período de tempo, mas será estocada pelo tempo que ela durar. Amostras estocadas poderão ser usadas para pesquisas de outras mutações da fibrose cística ou para estudos adicionais da variabilidade genética da FC. Nenhuma outra doença será investigada. O uso da sua amostra estocada para um novo estudo terá como condição uma nova avaliação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética. Leia atentamente, as opções abaixo e assinale apenas uma das alternativas, de forma a esclarecer sua vontade em relação à utilização da amostra estocada para novas pesquisas:

( ) Eu quero ser consultado caso novas pesquisas com o material genético armazenado seja realizada e então, assinar ou não o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

( ) Eu concordo que o material genético armazenado seja utilizado em novas pesquisas sem a necessidade de assinar novos termos, uma vez que autorizo, desde agora, a utilização deste material em futuras pesquisas.

O paciente ou responsável poderá ter acesso ao resultado do estudo genético por meio de uma solicitação escrita destinada a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Edna Lúcia Souza no Serviço de Pneumologia Pediátrica do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira, Rua Padre Feijó, sem número, Canela, telefone (71) 3283 8333. No momento da entrega, serão ofertados aos pacientes e responsáveis orientações relativas ao resultado do estudo genético, as implicações relativas aos achados do mesmo e aconselhamento genético quando aplicável.

Não haverá estocagem de amostras em outras instituições, além do Laboratório do Instituto de Biologia da UFBA. Entretanto, caso haja necessidade de transferência do material biológico armazenado para outra instituição, esta mudança lhe será comunicada, sempre que possível. Na impossibilidade desta comunicação, os pesquisadores apresentarão justificativa ao Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos. Você também será informado caso haja perda ou destruição de suas amostras biológicas, bem como encerramento da estocagem das amostras.

Os riscos físicos para saúde da participação neste estudo são muito pequenos e limitados ao procedimento de coleta de sangue. Durante a coleta de sangue, você poderá haver desconforto temporário devido à introdução da agulha. A coleta de sangue poderá resultar em uma pequena lesão que quase sempre cura-se sozinha. Em raros casos, pode ocorrer infecção localizada.

A sua participação é importante, pois ajudará a entender melhor a Fibrose Cística, permitindo que os médicos ampliem seu conhecimento sobre esta doença e com isso possam cuidar melhor dos portadores da Fibrose cística.

Ao término deste estudo, seu filho (a) continuará o acompanhamento regular no próprio ambulatório.

Todas as informações coletadas sobre seu filho (a) durante a pesquisa serão mantidas em sigilo. Qualquer informação sobre seu filho (a) que saia do hospital terá seu nome e endereço removidos, de forma que não poderá ser identificado (a). Ao término deste estudo, os dados coletados serão usados para publicação de artigos científicos.

Os investigadores não serão remunerados para a realização desse estudo, assim como os pacientes voluntários também não serão remunerados para a sua participação no mesmo.

Qualquer dúvida que lhe ocorra ao decorrer deste estudo, você poderá contactar com a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Edna Lúcia Souza pelo telefone (71) 3283 8868 ou o Serviço de Pneumologia Pediátrica do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira, você pode também entrar em contato com o Comitê de ética em pesquisa do Hospital Universitário Prof. Edgar Santos pelo telefone (71) 3283 8043.

Ao assinar este termo, você estará declarando que sua participação no estudo é voluntária. Você também estará esclarecido (a) de que sua recusa em participar do estudo ou sua desistência no curso do mesmo não afetará a qualidade e a disponibilidade da assistência médica será prestada ao seu filho. Você receberá uma cópia assinada e datada deste consentimento e declara que suas dúvidas foram esclarecidas de maneira satisfatória e em linguagem de fácil entendimento.

NO CASO DE VOCÊ TER DIFICULDADE PARA LER (  Sim ou Não  ), O  
 ESCRITO ACIMA, DEVE ATESTAR TAMBÉM QUE O(A) PESQUISADOR(A)  
 ....., QUANDO DA LEITURA  
 PAUSADA DESSE DOCUMENTO, ESCLARECEU TODAS SUAS DÚVIDAS E  
 PARA CONCORDAR EM PARTICIPAR DO ESTUDO, VOCÊ DEVERÁ  
 COLOCAR ABAIXO A IMPRESSÃO DO SEU DEDO POLEGAR.

---

Nome do(a) Paciente	Assinatura ou Impressão Digital	Data
---------------------	------------------------------------	------

---

Nome do(a) Representante do(a) Paciente	Assinatura	Data
--	------------	------

---

Pessoa que apresentou a pesquisa se não for o Investigador-principal	Assinatura	Data
--	------------	------

---

Nome do Investigador-principal	Assinatura	Data
--------------------------------	------------	------

**Anexo III - Formulário para coleta de dados.****COMPLEXO HOSPITALAR PROFESSOR EDGARD SANTOS****PESQUISA FIBROSE CÍSTICA - ADMISSÃO DO ESTUDO**

Q.1 Número do protocolo: \_\_\_\_\_ Q.2 Número do prontuário: \_\_\_\_\_

Q.3 Nome do responsável: \_\_\_\_\_

Q.4 Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Q.5 Idade (ano e meses): \_\_\_\_\_ Q.6 Data de Nascimento: \_\_\_\_\_

Q.7 Procedência: \_\_\_\_\_ Q.8 Naturalidade: \_\_\_\_\_

Q.9 Nome da genitora: \_\_\_\_\_

Q.10 Data de aplicação do questionário: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Q.11 Telefone para contato: \_\_\_\_\_

Q.12 Encaminhado por: 1( ) Médico particular      2( ) Sistema suplementar de saúde  
 3( ) Demanda espontânea      4 ( ) Outra unidade do HUPES  
 5 ( ) Outra unidade do SUS. Qual: \_\_\_\_\_

Q.13 Peso ao nascimento: \_\_\_\_\_

Q.14 Etnia do paciente: 1- [ ] Branca 2-[ ] Negra 3- [ ] Amarela 4- [ ] Parda 5- [ ]  
 Indígena

Q.15 Etnia da mãe da criança: 1- [ ] Branca 2-[ ] Negra 3- [ ] Amarela 4- [ ] Parda 5-  
 [ ] Indígena

Q.16 Etnia do pai da criança: 1- [ ] Branca 2-[ ] Negra 3- [ ] Amarela 4- [ ] Parda 5-  
 [ ] Indígena

Q.17 Consangüinidade: 1- [ ] Sim 2- [ ] Não 9- [ ] Sem informação

Q.18 Parentes com fibrose cística:

1- [ ] Ausente      2- [ ] pai      3- [ ] mãe      4 - [ ] irmão

5- [ ] primos      6- [ ] tios      7- [ ] Outros \_\_\_\_\_

9-[ ] Sem Informação

**Dados relativos à Fibrose Cística**

Q.19 Idade dos primeiros sintomas: \_\_\_\_\_ anos e \_\_\_\_\_ meses.

Q.20 Idade do diagnóstico: \_\_\_\_\_ anos e \_\_\_\_\_ meses.

Q.21 Diagnóstico sugerido por:





**Questões referentes a sinais, sintomas e outras patologias do paciente no período anterior ao diagnóstico de fibrose cística:**

- Q.28 Apresentava desconforto respiratório: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.29 Apresentava dispnéia: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.30 Apresentava chiado: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.31 Apresentava tosse: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.32 Se sim, tosse: (1)Seca (0)Produtiva (99) Sem informação
- Q.33. Apresentava infecções pulmonares recorrentes: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.34 Apresentava sinusite: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.35 Apresentava obstrução intestinal crônica: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.36 Apresentava edema: (1)Sim (0) Não (99) Sem informação
- Q.37 Apresentava pólipos nasais: (1) Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.38 Apresentava esteatorréia: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.39 Apresentava diarreia crônica: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.40 Apresentava prolapso retal: (1)Sim (0) (99) Sem informação
- Q.41 Apresentava pancreatite: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.42 Apresentava litíase biliar: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.43 Apresentava cianose: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.44 Apresentava hipocratismo digital: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.45 Apresentava dermatites: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação
- Q.46 Apresentava outros sinais (listar): \_\_\_\_\_
- Q.47 Apresentava intolerância a glicose: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação

Q.48 Apresentava alterações no exame da glicemia jejum: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação

Q.49 Escore de Shwachman (a época do diagnóstico): \_\_\_\_\_

Q.50 Escore de Shwachman atual: \_\_\_\_\_

### Estudo Genético

Q.51 Foi realizado o estudo genético?

1.  Sim    2.  Não    3.  Não realizado    9.  Sem informação

Q.52 Caso sim, mutação (ões) encontrada (s): \_\_\_\_\_

### Teste do Suor

Cloretos no suor, teste 1:

Cloretos no suor, teste 2:

Q.53 1ª amostra: \_\_\_\_\_ MEq/l

Q.55 1ª amostra: \_\_\_\_\_ MEq/l

Q.54 2ª amostra: \_\_\_\_\_ MEq/l

Q.56 2ª amostra: \_\_\_\_\_ MEq/l

### Terapêutica

Q. 57 Fez uso de Broncodilatadores em algum momento? (1)Sim (0)Não (99) S.I.

Q. 58 Fez uso de Corticóide inalatório em algum momento? (1)Sim (0)Não (99) S.I.

Q. 59 Fez uso de anti-bióticos inalatórios em algum momento? (1)Sim (0)Não (99) S.I.

Q. 60 Qual anti-bióticos inalatórios? \_\_\_\_\_

Q.61 Por quanto tempo? \_\_\_\_\_

Q.62 Faz uso de enzimas pancreáticas? (1)Sim (0)Não (99) sem informação (S.I)

Q. 63 Há quanto tempo? (uso de enzimas pancreáticas): \_\_\_\_\_

Q. 64 Faz uso de dornase alfa? (1)Sim (0)Não (99) sem informação(S.I)

Q.65 Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

### Exames de Imagem

(exame com data anterior mais próxima a admissão do paciente)

Q. 66 Realização de Rx tórax (1)Sim (0)Não

Q. 67 Data da realização: \_\_/\_\_/\_\_

Q. 68 Se sim, presença de hiperinsuflação (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 69 Se sim, presença de atelectasias (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 70 Se sim, presença de áreas de condensação (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 71 Se sim, presença de infiltrado intersticial (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 72 Se sim, presença de bronquiectasias (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

TC de tórax

Q. 73 Se sim, presença de atelectasias (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 74 Se sim, presença de áreas de condensação (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 75 Se sim, presença de infiltrado intersticial (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

Q. 76 Se sim, presença de bronquiectasias (1)Sim (0)Não (99) Não se aplica

### **Função Pulmonar – Espirometrias**

DATA				
CVF				
VEF1				
VEF0,5				
FEF50				
FEF75				
FEF 25-75				
CVF/VEF1				

### **Avaliação Nutricional**

Período referente ao diagnóstico:

Q.77 Peso:\_\_\_\_\_ Q.78 Altura:\_\_\_\_\_

Q.79 IMC/I:\_\_\_\_\_ Q.80 Peso/Altura: \_\_\_\_\_

Q.81 Peso/Idade \_\_\_\_\_ Q.82 Altura/Idade: \_\_\_\_\_

Admissão do estudo – dados atuais:

Q. 83 Peso:\_\_\_\_\_ Q.84 Altura:\_\_\_\_\_

Q.85 IMC/I:\_\_\_\_\_ Q.86 Peso/Altura: \_\_\_\_\_

Q.87 Peso/Idade \_\_\_\_\_ Q.88 Altura/Idade: \_\_\_\_\_

Q. 89 Perímetro Cefálico (crianças menores de 1 ano) \_\_\_\_\_ ;Q. 90\_\_\_\_\_

Q. 91 Circunferência braquial (2 medidas): \_\_\_\_\_ ; Q. 92\_\_\_\_\_

Q.93 Prega Cutânea Tricipital (PCT): \_\_\_\_\_ ; Q.94 \_\_\_\_\_

Q. 95 Prega Cutânea Subescapular (PCB): \_\_\_\_\_ ; Q. 96 \_\_\_\_\_

Qualidade de dieta

Q. 97Taxa calórica:\_\_\_\_\_

Q. 98 Taxa proteica: \_\_\_\_\_ g/kg/dia Q. 99 \_\_\_\_\_ %

Q. 100 Taxa glicídica: \_\_\_\_\_ g/kg/dia Q.101 \_\_\_\_\_ %

Q.102 Taxa lipídica: \_\_\_\_\_ g/kg/dia Q.103 \_\_\_\_\_ %

Q. 104 Vit A (RE)\_\_\_\_\_ Q.105 Vit. D\_\_\_\_\_ Q.106 Vit E\_\_\_\_\_

Q.107 Vit K \_\_\_\_\_ Q. 108 Zinco \_\_\_\_\_ Q. 109 Cálcio \_\_\_\_\_

Q. 110 Ferro \_\_\_\_\_

Q. 111 Utiliza suplemento vitamínico? ( ) sim ( ) não

Q. 112 Utiliza suplemento dietético? ( ) sim ( ) não. Se sim, qual? \_\_\_\_\_

Q. 113 Diagnóstico de má absorção? ( ) sim ( ) não Q. 114 Data:\_\_\_\_\_

Q. 115 Se sim, qual critério diagnóstico: ( ) clínico ( ) laboratorial: \_\_\_\_\_

Q. 116 Faz terapia de reposição enzimática?

Q.117 Data de início\_\_\_\_\_ Q. 118 Quantidade: \_\_\_\_\_

Q. 119 Diagnóstico de baixa estatura ( ) sim ( ) não

Q.120 Idade Óssea: \_\_\_\_\_ Q. 121 Idade Cronológica: \_\_\_\_\_

### Colonização Bacteriana

<p>Q.122 Escarro 1 (Momento do diagnóstico) Data: __/__/__</p>	<p>Isolado:</p> <p>0. <input type="checkbox"/> Ausente    1. <input type="checkbox"/> P. aeruginosa    2. <input type="checkbox"/> Pseudomonas cepa mucoide</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Pseudomonas multiresistente    4. <input type="checkbox"/> S. aureus    5. <input type="checkbox"/> MSSA</p> <p>6. <input type="checkbox"/> MRSA    7. <input type="checkbox"/> Klebsiella    8. <input type="checkbox"/> H. influenza    9. <input type="checkbox"/> Flora saprófita</p> <p>10. <input type="checkbox"/> S. maltophilia    11. <input type="checkbox"/> B. cepacea    12. <input type="checkbox"/> Aspergillus</p> <p>13. <input type="checkbox"/> Micobactéria    14. <input type="checkbox"/> Sem informação</p> <p>15. <input type="checkbox"/></p> <p>]Outros _____</p>
<p>Q.123 Escarro 2 (Momento da introdução no estudo) Data: __/__/__</p>	<p>Isolado:</p> <p>0. <input type="checkbox"/> Ausente    1. <input type="checkbox"/> P. aeruginosa    2. <input type="checkbox"/> Pseudomonas cepa mucoide</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Pseudomonas multiresistente    4. <input type="checkbox"/> S. aureus    5. <input type="checkbox"/> MSSA</p> <p>6. <input type="checkbox"/> MRSA    7. <input type="checkbox"/> Klebsiella    8. <input type="checkbox"/> H. influenza    9. <input type="checkbox"/> Flora saprófita</p> <p>10. <input type="checkbox"/> S. maltophilia    11. <input type="checkbox"/> B. cepacea    12. <input type="checkbox"/> Aspergillus</p> <p>13. <input type="checkbox"/> Micobactéria    14. <input type="checkbox"/> Sem informação</p> <p>15. <input type="checkbox"/></p> <p>]Outros _____</p>

Q.129 Já foi colonizado por Pseudomonas: (1)Sim (0)Não (99) Sem informação

Q.130 Qual a idade do primeiro isolamento: \_\_\_ anos e \_\_\_\_\_ meses (99) não se aplica

Q. 131 Qual a idade do segundo isolamento: \_\_\_ anos e \_\_\_\_\_ meses (99) não se aplica

Q. 132 É colonizado crônico por pseudomonas: (1) Sim (0)Não (99) Sem informação

Data	Resultado da cultura – microrganismo isolado (usar código)