

Rastreio neonatal da fibrose quística em Portugal: etapas de uma história de sucesso

Cystic fibrosis newborn screening in Portugal: stages of a successful story

Ana Marcão, Lurdes Lopes, Conceição Pinho, Fábio Guimarães, Laura Vilarinho

ana.marcao@insa.min-saude.pt

Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal

_Resumo

A Fibrose Quística (FQ) é uma doença genética com transmissão autossómica recessiva, resultante da deficiência na proteína CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). Associada a esta patologia, está descrita uma mutação prevalente, presente em mais de 90% dos alelos dos doentes do Norte da Europa (p.Phe508del), mas foram identificadas mais de 2000 outras variantes no gene CFTR.

O rastreio neonatal desta patologia é possível desde 1979, baseado na determinação de elevadas concentrações de Tripsinogénio Imunorreativo (IRT) sanguíneo, nos recém-nascidos (RN) afetados. Atualmente, são utilizadas diferentes combinações de marcadores bioquímicos e vários níveis de análise genética, em algoritmos de rastreio neonatal complexos.

Em Portugal, este rastreio decorre a nível nacional desde 2013, após um primeiro estudo-piloto regional. Foram rastreados 949 624 RN e identificados 92 doentes, o que se traduz numa prevalência de 1:10 322 RN.

Este trabalho descreve a implementação do rastreio neonatal da FQ em Portugal, desde os estudos-piloto (1991-1995 e 2013-2016) até à sua integração oficial no Programa Nacional de Rastreio Neonatal (PNRN), em 2018, salientando a importância dos fatores epidemiológicos, económicos e ético-legais na implementação e otimização do rastreio neonatal.

_Abstract

Cystic Fibrosis (CF) is a genetic disorder with autosomal recessive inheritance, resulting from a deficiency in the CFTR protein (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). A prevalent mutation, p.Phe508del, is present in over 90% of alleles in patients of Northern European descent, but more than 2,000 other variants have been identified in the CFTR gene.

Neonatal screening for this disease has been possible since 1979, based on the detection of elevated levels of immunoreactive trypsinogen, in the blood of affected newborns. Currently, various combinations of biochemical markers and multiple levels of genetic analysis are used in complex newborn screening algorithms.

In Portugal, nationwide screening has been in place since 2013, following an initial regional pilot study. A total of 949,624 newborns have been screened, with 92 patients identified, corresponding to a prevalence of 1 in 10,322 live births.

This paper describes the implementation of neonatal CF screening in Portugal, from the pilot studies (1991–1995 and 2013–2016) to its official integration into the National Neonatal Screening Program in 2018, highlighting the importance of epidemiological, economic, and ethical-legal factors in the implementation and optimization of neonatal screening.

_Introdução

A Fibrose Quística (FQ) foi descrita, pela primeira vez, em 1938 por Dorothy Andersen, como uma doença do pâncreas, sendo posteriormente reconhecido o envolvimento pulmonar. As primeiras, e mais frequentes, manifestações clínicas desta patologia são infeções respiratórias recorrentes e baixo peso, devido à insuficiência pancreática, e surgem habitualmente nos primeiros meses de vida. A qualidade de vida dos doentes é gravemente afetada, podendo ocorrer a morte muito precoce. A perda excessiva de sal no suor é uma característica da doença e a descoberta de elevadas concentrações de iões cloreto (Cl⁻) no suor destes doentes levou ao desenvolvimento do “teste do suor”, ainda hoje o teste mais utilizado na confirmação do diagnóstico da FQ. Muitas outras manifestações clínicas surgem associadas a esta patologia (1).

A FQ é uma doença genética com transmissão autossómica recessiva e resulta da deficiência na proteína *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)*, um canal iónico responsável pelo transporte dos iões Cl⁻ e bicarbonato (HCO₃⁻) através da membrana apical das células epiteliais, e codificada pelo gene *CFTR* (2). Mais de 2000 variantes foram identificadas neste gene, e o prognóstico clínico a partir das mutações identificadas é limitado, devido à fraca correlação genótipo-fenótipo, especialmente para os sintomas pulmonares. Apesar de estar presente na generalidade das populações, a prevalência da FQ é superior nas populações de origem europeia, onde apresenta um valor médio de 1:3 500 RN. Esta elevada frequência está associada a uma mutação prevalente (p.Phe508del, gene *CFTR*), presente em mais de 90% dos alelos dos doentes do norte da Europa (3,4).

O tratamento da FQ inclui a suplementação com enzimas pancreáticas lipossolúveis, o que permite a melhoria significativa do estado nutricional destes doentes, e a utilização de potentes antibióticos e mucolíticos na resolução das infeções respiratórias persistentes (5,6). Recentemente, a utilização de moduladores genéticos altamente eficientes que atuam corrigindo, a nível molecular, as alterações estruturais ou de função da proteína CFTR, teve um elevado impacto na melhoria da saúde e qualidade de vida dos doentes com FQ (5,7-9).

O aumento do Tripsinogénio Imunorreativo (IRT) sanguíneo, ao nascimento, permite efetuar o rastreio neonatal da FQ, desde 1979 (10). A identificação do gene e proteína envolvidos na FQ, em 1989 (2), e a demonstração, em 2005 (11), de valores sanguíneos elevados para a Proteína Associada à Pancreatite (PAP), nos RN com FQ, vieram permitir a introdução de testes de segunda linha nos algoritmos de rastreio, permitindo uma melhoria significativa do seu desempenho. Muitos programas de rastreio neonatal utilizam atualmente algoritmos complexos, combinando a utilização de marcadores bioquímicos (IRT e PAP), e também vários níveis de análise genética (12). Os doentes com quadros clínicos de *íleo meconial* apresentam, frequentemente, valores normais de IRT ao nascimento, pelo que não são identificados no rastreio neonatal, com as estratégias habituais. Estas crianças devem realizar o teste do suor, ou efetuar o estudo do gene *CFTR*, mesmo que o resultado do rastreio neonatal seja negativo.

_Objetivo

A integração da fibrose quística num programa de rastreio neonatal exige a otimização do algoritmo de rastreio a utilizar, atendendo às condições peculiares de cada população. Este trabalho descreve a implementação desse rastreio em Portugal, que decorre a nível nacional desde 2013, salientando a importância dos fatores epidemiológicos, económicos e ético-legais, particulares da nossa população, e que condicionaram quer a implementação, quer a otimização do algoritmo de rastreio.

_Recém-nascidos rastreados e metodologia

Foi efetuado um estudo-piloto regional no Grande Porto, entre 1991 e 1993, incluindo 40 000 RN. Em 1994, este estudo passou a ser efetuado na região centro, tendo sido estudados 4 533 RN (PNDP- relatório 1993 (13)). Foi utilizada uma estratégia IRT/IRT, e o IRT foi determinado utilizando o método DELFIA® da *PerkinElmer*. Em 2013, iniciou-se um estudo-piloto a nível nacional, que se prolongou até 2016, e incluiu 255 000 RN. Foi utilizada uma estratégia IRT/PAP/IRT, e a quantificação do IRT e da PAP foram, respetivamente, efetuadas pelo sistema *AutoDELFIA*® da *PerkinElmer* e pelo *kit MucoPAP-F* da *Dynabio* (14).

Os casos positivos foram referenciados para o Centro de Tratamento (CT) da FQ mais próximo da área de residência dos pais. No CT, é efetuada a avaliação clínica, realizado o teste do suor, e solicitado o consentimento informado dos pais, para realização do estudo do gene *CFTR*, nos casos positivos ou duvidosos. O estudo genético foi efetuado a dois níveis: pesquisa da mutação mais frequente (p.Phe508del) por PCR alelo-específico (método adaptado de Ferrie, *et al.* (15)), e pesquisa de 62 mutações mais frequentes na Península Ibérica, utilizando um *kit* da *Elucigene*® (*CF-EU2v1* e *CF Iberian Panel kit*).

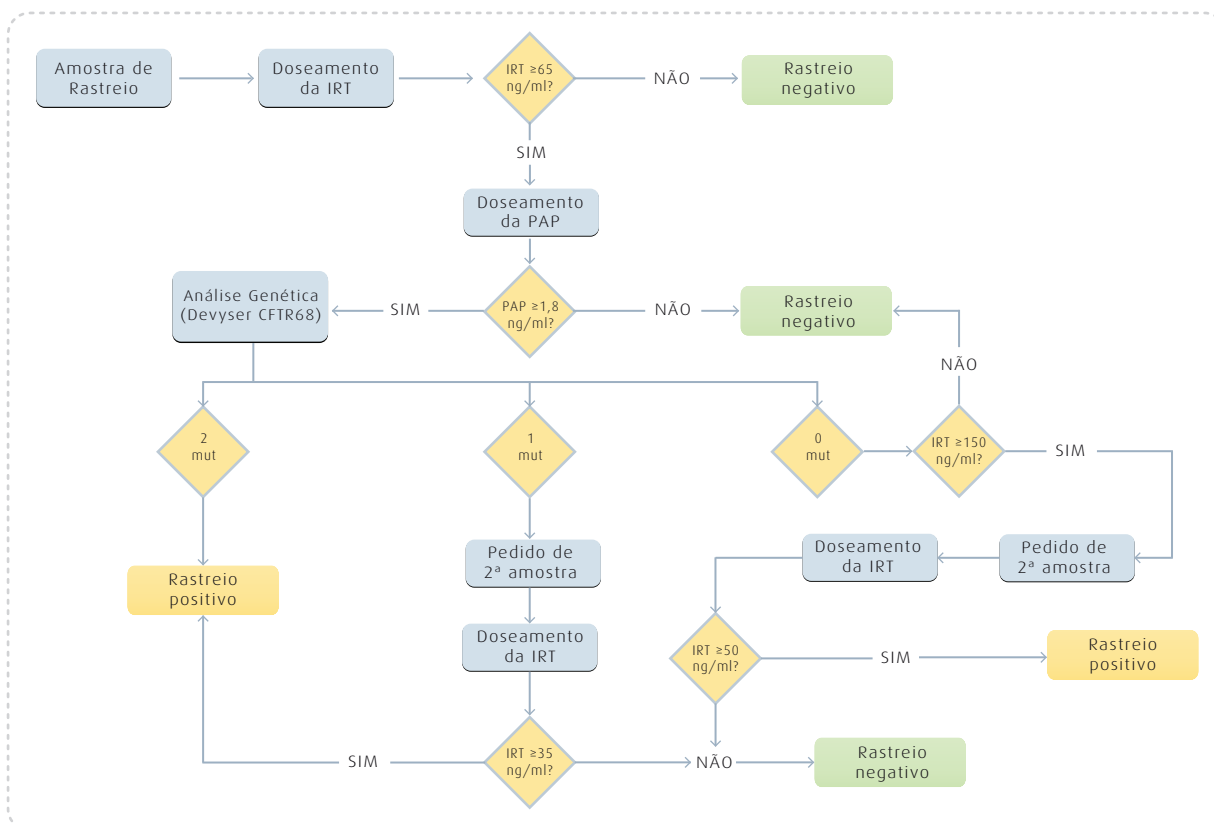
Entre 2017 e 2022, este rastreio prosseguiu baseado na estratégia IRT/PAP/IRT, com ligeiras alterações ao algoritmo (16). Em 2022, o estudo genético passou a ser efetuado com o *kit CFTR68* da *Devyser*®, que permite a pesquisa de 68 mutações consideradas significativas na população europeia atual.

Em 2023, foi alterada a estratégia de rastreio neonatal da FQ, que passou a ser do tipo IRT/PAP/DNA, considerando-se positivos, e passíveis de referência, todos os casos com, pelo menos, uma mutação identificada. Os casos com IRT ≥ 150 ng/mL na amostra de rastreio, que mantiveram um valor aumentado na amostra de repetição (IRT ≥ 100 ng/mL), foram também referenciados. Desde o início de 2024, passou a ser também solicitada uma amostra de repetição, para o doseamento do IRT, em todos os casos com apenas uma mutação identificada, isto é, uma estratégia IRT/PAP/DNA/IRT (figura 1). A quantificação do IRT é efetuada pelo sistema *GSP*® da *Rewity*, desde 2024. Os doseamentos do IRT e da

PAP estão acreditados pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC), segundo a Norma NP EN ISO 15189 (Laboratórios clínicos: Requisitos para a qualidade e competência), desde 2019.

Globalmente, desde 2013, foram rastreados 949 624 RN, a nível nacional.

Figura 1: Algoritmo do rastreio neonatal da fibrose quística desde 2024.



Resultados e discussão

No primeiro estudo-piloto realizado em Portugal para o rastreio neonatal da FQ (1991-1993), foram identificados 4 casos positivos na região do Grande Porto, daqui resultando uma prevalência de 1: 10 000 RN. Na região Centro (1994-1995) não foi identificado nenhum doente. Os resultados obtidos ficaram muito aquém do esperado: o número de doentes identificados indicava uma prevalência ao nascimento para a FQ de metade do previsto, e o método de rastreio utilizado resultava num elevado número de casos falsos positivos, com necessidade de convocar um grande número de RN para efetuar o teste do suor, afetando, negativamente, muitas famílias. Estes resultados, associados ao questionável benefício clínico que a identificação precoce dos doentes trazia nessa altura, resultaram na suspensão desse rastreio (PNDP - relatório 1995 (17)).

Em 2013, surgiu a oportunidade de realizar um segundo estudo-piloto com o projeto “Rastreio, Diagnóstico e Tratamento Precoce da Fibrose Quística”, financiado pelo Alto Comissariado para a Saúde e envolvendo várias Associações de Doentes, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), e os hospitais com consulta especializada na FQ. A continuidade deste projeto que, inicialmente, previa incluir 80 000 RN, foi assegurada pelo INSA até 2016, e foram estudados 255 000 RN. Foram referenciados setenta e oito casos e 32 foram confirmados como positivos. Os resultados deste estudo-piloto foram publicados em 2018 (15). Identificaram-se, neste período, três casos falsos negativos, um deles com *íleo meconial*, por suspeita clínica. Considerando os 35 casos identificados, observou-se uma prevalência de 1:7 285 RN. A introdução da determinação da PAP, na estratégia de

artigos breves_ n. 6

rastreio, possibilitava um custo-benefício aceitável para a comunidade, e permitia contornar a questão do rastreio genético, legalmente e economicamente não aceitável em Portugal, nessa altura. Em 2017, foram criados os Centros de Referência Nacionais (CR) para a área da FQ (Despacho n.º 6669/2017), passando todos os casos com rastreio neonatal positivo a ser referenciados para estes centros. No final de 2018, a FQ foi oficialmente integrada no painel nacional do PNRN. A estratégia de rastreio IRT/PAP/IRT manteve-se até final de 2022, com ligeiros ajustes nos valores de *cut-off* da PAP e IRT.

Em 2023, foi alterada a estratégia de rastreio da FQ, passando a incluir-se o estudo genético no algoritmo de rastreio [estratégia IRT/PAP/DNA (2023) e IRT/PAP/DNA/IRT (2024)], com um valor de segurança para valores muito elevados de IRT (≥ 150 ng/mL). Todas as alterações no algoritmo de rastreio neonatal da FQ foram efetuadas após reunião com os CR. A análise genética efetuada inclui apenas a pesquisa de mutações comprovadamente causais de FQ, de acordo com a base de mutações CFTR2, e frequentes na população europeia. Com a introdução do estudo genético no algoritmo de rastreio, o número de pedidos de novas amostras diminuiu significativamente, de 0,3% (2017-2022) para 0,04% (2024), e o valor preditivo positivo (VPP) para os casos referenciados passou de 30 para 50% (tabela 1). A diminuição do número de casos falsos positivos referenciados é especialmente

importante, por vários motivos: 1) representam uma sobrecarga desnecessária para os CR, 2) diminuem a confiança dos profissionais de saúde no rastreio neonatal, e 3) representam uma enorme ansiedade para as famílias.

Desde 2013, foram rastreados 949 624 RN e identificados 92 doentes, o que se traduz numa prevalência de 1:10 322 RN (PNRN- relatório 2024 (18)). Foram identificados oito casos falsos negativos, quatro dos quais apresentando quadros clínicos sugestivos de *íleo meconial*. Oito casos referenciados apresentaram valores de teste do suor intermédios ou variantes genéticas de significado incerto, e mantêm-se em vigilância clínica (casos CFSPID, *Cystic Fibrosis Screening Positive Inconclusive Diagnosis*). O doseamento da PAP apresenta uma dupla vantagem: é economicamente mais vantajoso, pois permite diminuir o número de estudos genéticos, e reduz significativamente o número de casos CFSPID e portadores identificados, relativamente a algoritmos em que o estudo genético é utilizado como teste de segunda linha (19). Por outro lado, a introdução do estudo genético, como teste de terceira linha, permite uma melhoria considerável do desempenho deste rastreio, com uma diminuição significativa da taxa de pedidos de segundas amostras e um aumento significativo do VPP (20). A análise dos resultados genéticos de todos os doentes identificados desde 2013, mostra que a mutação

Tabela 1: Comparação dos resultados do rastreio neonatal da FQ com a estratégia IRT/PAP/IRT e IRT/PAP/DNA/IRT.

Estratégia de rastreio	IRT/PAP/IRT (2017-2022)	IRT/PAP/DNA/IRT (2024)
Nº de RN rastreados	524 200	84 631
Pedidos de novas amostras (%)	0,3	0,04
Valor preditivo positivo (VPP)*	2,9	18
Sensibilidade*	95,3%	100%
Especificidade	99,7%	99,9%
Valor preditivo positivo (VPP)* para os casos referenciados	30	50
Prevalência ao nascimento	1: 11 649	1: 12 090

*Cálculos efetuados sem contabilizar casos com *íleo meconial*.

p.Phe508del está presente em 65% dos alelos. Cinco mutações adicionais foram identificadas com uma frequência alélica de mais de 2% (p.Gly542X, p.Arg334Trp, p.Ala561Glu, p.Gly85Glu e p.Asn1303Lys), apresentando todas as restantes mutações uma frequência inferior.

A prevalência da FQ ao nascimento mantém, desde o início do rastreio nacional, uma tendência decrescente. Esta diminuição, que acompanha o que acontece em outros países europeus, pode dever-se ao aconselhamento genético e ao diagnóstico pré-natal, mas também à alteração das características da população europeia em idade fértil. Fenómenos globais de migração, trouxeram para a Europa ocidental muitos indivíduos jovens, oriundos de populações com menor prevalência ao nascimento da FQ.

Conclusão

A otimização da estratégia do rastreio neonatal da fibrose quística (FQ) em Portugal, de acordo com os aspetos éticos, sociais, económicos e epidemiológicos da população portuguesa, tem-se revelado fundamental para a melhoria contínua do desempenho deste rastreio.

Cumprindo com as orientações internacionais e com os objetivos do Programa Nacional de Rastreio Neonatal, este rastreio tem contribuído para a excelência dos cuidados de saúde oferecidos aos doentes portugueses com FQ.

Agradecimentos:

Os autores agradecem todo o empenho e colaboração demonstrados para a implementação do rastreio neonatal da FQ: à Professora Doutora Celeste Barreto e à Professora Doutora Margarida Amaral, autoras do projeto “Rastreio, Diagnóstico e Tratamento Precoce da Fibrose Quística”, e às associações de doentes, Associação Nacional da Fibrose Quística (ANFQ) e Associação Portuguesa da Fibrose Quística (APFQ). Agradecem também aos Centros de Referência para a FQ, pela disponibilidade que sempre demonstraram em colaborar com PNRN, e aos doentes e respetivas famílias.

Referências bibliográficas:

- Travert G, Heeley M, Heeley A. History of Newborn Screening for Cystic Fibrosis--The Early Years. *Int J Neonatal Screen*. 2020 Jan 31;6(1):8. <https://doi.org/10.3390/ijns6010008>
- Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989 Sep 8;245(4922):1066-73. (Erratum in: *Science* 1989 Sep 29;245(4925):1437). <https://doi.org/10.1126/science.2475911>
- Scotet V, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn Screening for CF across the Globe--Where Is It Worthwhile? *Int J Neonatal Screen*. 2020 Mar 4;6(1):18. <https://doi.org/10.3390/ijns6010018>
- Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, et al. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat*. 2002 Jun;19(6):575-606. <https://doi.org/10.1002/humu.10041>
- Shteinberg M, Haq IJ, Polineni D, et al. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2021 Jun 5;397(10290):2195-11. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32542-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32542-3)
- Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2016 Nov 19;388(10059):2519-31. Epub 2016 Apr 29. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00576-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00576-6)
- Amaral MD, Harrison PT. Development of novel therapeutics for all individuals with CF (the future goes on). *J Cyst Fibros*. 2023 Mar;22(Suppl 1):S45-S49. Epub 2022 Oct 30. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2022.10.007>
- Amaral MD. How to determine the mechanism of action of CFTR modulator compounds: A gateway to therapeutics. *Eur J Med Chem*. 2021 Jan 15;210:112989. Epub 2020 Nov 5. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112989>
- Taylor-Cousar JL, Robinson PD, Shteinberg M, et al. CFTR modulator therapy: transforming the landscape of clinical care in cystic fibrosis. *Lancet*. 2023 Sep 30;402(10408):1171-84. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01609-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01609-4)
- Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet*. 1979 Mar 3;1(8114):472-4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(79\)90825-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(79)90825-0)
- Sarles J, Berthézyne P, Le Louarn C, et al. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis. *J Pediatr*. 2005 Sep;147(3):302-5. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2005.05.017>
- Barben J, Castellani C, Dankert-Roelse J, et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros*. 2017 Mar;16(2):207-13. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.12.012>
- Programa Nacional de Diagnóstico Precoce. Centro de Diagnóstico Pré-natal: relatório de actividades em 1993. Porto: Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães, 1994. <http://hdl.handle.net/10400.18/4085>
- Marcão A, Barreto C, Pereira L, et al. Cystic Fibrosis Newborn Screening in Portugal: PAP Value in Populations with Stringent Rules for Genetic Studies. *Int J Neonatal Screen*. 2018 Jun 29;4(3):22. <https://doi.org/10.3390/ijns4030022>
- Ferrie RM, Schwarz MJ, Robertson NH, et al. Development, multiplexing, and application of ARMS tests for common mutations in the CFTR gene. *Am J Hum Genet*. 1992 Aug;51(2):251-62. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1682690/>
- Camacho B, Pereira L, Bragança R, et al. Evaluating the Impact of Newborn Screening for Cystic Fibrosis in Portugal: A Decade of Insights and Outcomes. *Int J Neonatal Screen*. 2025 Aug 27;11(3):69. <https://doi.org/10.3390/ijns11030069>
- Programa Nacional de Diagnóstico Precoce. Centro de Diagnóstico Pré-natal: relatório de actividades em 1995. Porto: Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães, 1996. <http://hdl.handle.net/10400.18/4087>
- Programa Nacional de Rastreio Neonatal: relatório 2024. Porto: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2025. <http://hdl.handle.net/10400.18/10520>
- Sommerburg O, Hammermann J. Pancreatitis-Associated Protein in Neonatal Screening for Cystic Fibrosis: Strengths and Weaknesses. *Int J Neonatal Screen*. 2020 Mar 30;6(2):28. <https://doi.org/10.3390/ijns6020028>
- Munck A, Berger DO, Southern KW, et al. ; European CF Society Neonatal Screening Working Group (ECFS NSWG). European survey of newborn bloodspot screening for CF: opportunity to address challenges and improve performance. *J Cyst Fibros*. 2023 May;22(3):484-95. Epub 2022 Nov 10. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2022.09.012>