

**PUCRS**

**ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA  
E SAÚDE DA CRIANÇA  
DOUTORADO EM MEDICINA/PEDIATRIA**

**MARIA CLARA DA SILVA VALADÃO**

**IMPACTO DE DIFERENTES COLONIZAÇÕES BACTERIANAS SOBRE O  
ESTADO NUTRICIONAL, FUNÇÃO PULMONAR E GRAVIDADE CLÍNICA EM  
PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA.**

**Porto Alegre  
2017**

**PÓS-GRADUAÇÃO - STRICTO SENSU**



**Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul**

---

**MARIA CLARA DA SILVA VALADÃO**

**IMPACTO DE DIFERENTES COLONIZAÇÕES BACTERIANAS SOBRE O  
ESTADO NUTRICIONAL, FUNÇÃO PULMONAR E GRAVIDADE CLÍNICA EM  
PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA.**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em  
Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia  
Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
para obtenção do título de “Doutor em  
Medicina/Pediatria”.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto

Porto Alegre  
2017

---

---

---

**MARIA CLARA DA SILVA VALADÃO**

**IMPACTO DE DIFERENTES COLONIZAÇÕES BACTERIANAS SOBRE O  
ESTADO NUTRICIONAL, FUNÇÃO PULMONAR E GRAVIDADE CLÍNICA EM  
PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA.**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em  
Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia  
Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
para obtenção do título de “Doutor em  
Medicina/Pediatria”.

Aprovada em: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Comissão examinadora:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcelo Taday Rodrigues

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcelo Comerlato Scotta

\_\_\_\_\_  
Profª. Dra. Rita Mattiello

\_\_\_\_\_  
Prof Dr. Renato Tetelbo Stein - suplente

Porto Alegre

2017

---

---

---

## Ficha Catalográfica

V136i Valadão, Maria Clara da Silva

Impacto de diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com fibrose cística / Maria Clara da Silva Valadão . – 2017.

79 f.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto.

1. microbiologia. 2. estado nutricional. 3. testes de função respiratória. 4. prognóstico. 5. fibrose cística. I. Pinto, Leonardo Araújo. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

---

---

*Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.*

*Clarice Lispector*

---

---

*Dedicatória*

*Às minhas filhas Isabela e Ana Clara por me inspirarem a querer um mundo melhor.*

*Ao meu esposo Rogério, pelo seu amor, apoio e pela cumplicidade nas minhas decisões.*

*Aos meus pais Osmar e Therezinha, pelo incentivo e entusiasmo com minhas conquistas.*

*À minha sogra Maria Carolina e aos meus irmãos Marcia, Adriana, Luciana e Osmar,*

*pela torcida.*

---

---

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço ao curso de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança pela oportunidade de me colocar novamente nos bancos escolares e reascender minha paixão pela medicina e pela pediatria.
  - Agradeço ao Professor Leonardo Araújo Pinto que confiou na minha capacidade de executar este trabalho científico e por toda sua disponibilidade em me acompanhar.
  - Agradeço imensamente ao Dr. João Paulo Heinzmann Filho que me guiou nesta jornada e sua ajuda incomensurável na confecção deste manuscrito.
  - Agradeço a minha colega Marinez Casarotto de Oliveira que se tornou uma irmã no caminho que escolhemos trilhar como pós-graduandas, dividindo angústias e alegrias nestes últimos cinco anos.
  - À Carla Rothmann, secretária do programa de pós-graduação em Pediatria pela sua ajuda em todos os momentos e assuntos e pela amizade que levarei comigo.
  - À acadêmica Fernanda Vendrusculo pela ajuda na coleta dos dados da pesquisa.
  - Aos meus colegas do serviço de Pediatria do HUSM Dra Cláudia Funck Vallandro, Dr Paulo Roberto Aita, Dr Jean Paraboni Ilha e Dra Bruna Lanza Volcan pelo apoio em todos os momentos que precisei me ausentar.
  - A direção do Hospital Universitário de Santa Maria que incentiva seus servidores a seguirem na sua qualificação acadêmica.
  - Ao serviço de Pneumologia Pediátrica do Hospital São Lucas da PUCRS por compartilhar os dados deste trabalho.
  - Às crianças, adolescentes e adultos portadores de fibrose cística.
-

---

## RESUMO

**Introdução:** A fibrose cística é uma doença genética autossômica recessiva, caracterizada principalmente por obstrução e inflamação das vias aéreas que leva a instalação crônica de microrganismos. As infecções agudas e/ou colonizações crônicas levam a um progressivo declínio da função pulmonar que evolui para falência respiratória, principal causa de morte entre estes indivíduos. Apesar dos avanços alcançados na sobrevivência, aspectos relacionados a infecções ainda necessitam ser revisados. Assim, o objetivo principal do estudo foi avaliar o impacto de diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com fibrose cística (FC).

**Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte, retrospectivo onde foram incluídos pacientes com diagnóstico confirmado de FC, com idade > 3anos e que apresentassem os dados completos em um banco de dados de um serviço de referência em fibrose cística e/ou disponíveis nos prontuários médicos. Foram coletadas informações antropométricas (peso e estatura para fins de cálculo de IMC) e verificação do estado nutricional, dados clínicos de gravidade, colonizações presentes nas secreções das vias aéreas além da função pulmonar (VEF<sub>1</sub>, CVF e VEF<sub>1</sub>/ CVF). Todos os dados coletados se tratavam da avaliação anual desses sujeitos, entre o período de 2009 a 2013. Para fins estatísticos, utilizou-se o teste de *Friedman* (pós-teste de *Dunn's*) e o teste U de *Mann Whitney*.

**Resultados:** Foram incluídos 68 pacientes com FC de um total de 80 que são acompanhados regularmente pelo serviço, sendo 57,4 % do sexo masculino com idade média de 10,35 anos no início do estudo. Ao longo do seguimento de cinco anos (média de 3,55 anos) o estado nutricional ( $p=0,743$ ) e o escore de gravidade clínica ( $p=0,235$ ) permaneceram estáveis. Houve uma redução estatisticamente significativa da relação VEF<sub>1</sub>/CVF ao longo do acompanhamento (do ano 2 para o ano 3 e do ano 2 para o ano 5;  $p<0,05$ ). As colonizações mais frequentes foram a *Staphylococcus aureus* sensível a Oxacilina (MSSA) (29,8-46,3%), seguidas da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) não mucóide (8,5-19,4%), Complexo *Burkholderia Cepacia* (CBC) (4,9-21,3%), PA mucóide (2,4-6,5 %) e *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (2,4- 16,1%). Os pacientes que foram colonizados ao longo do estudo por MRSA ( $p=0,040$ ) apresentaram uma redução do VEF<sub>1</sub> ( $p=0,004$ ) e da CVF ( $p=0,005$ ) no ano 5, em comparação aos não colonizados por essa bactéria. Além disso, os indivíduos com PA não mucóide apresentaram redução ( $p=0,007$ ) da CVF.

**Conclusões:** Nossos achados demonstram que a colonização bacteriana por *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina e por *Pseudomonas aeruginosa* não mucóide está relacionada a piora na função pulmonar (VEF<sub>1</sub> e CVF). Todavia, não foi observado impacto das diferentes colonizações sobre o IMC e sobre o escore de gravidade clínica de Shwachman-Kulczycki ao longo dos 5 anos.

**Palavras-chave:** Microbiologia, estado nutricional, testes de função respiratória, prognóstico, fibrose cística.

---



---

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Cystic fibrosis is an autosomal recessive genetic disorder characterized mainly by obstruction and inflammation of the airways leading to the chronic establishment of microorganisms. Acute infections (exacerbations) and/or chronic colonization lead to a progressive decline in lung function that leads to respiratory failure, the main cause of death among these individuals. Despite advances in survival, aspects related to infections still need to be reviewed. Thus, the main objective of the study was to evaluate the impact of different bacterial colonizations on nutritional status, lung function and clinical severity in patients with cystic fibrosis (CF).

**Methods:** This is a retrospective cohort study that included patients with a confirmed diagnosis of CF, aged > 3 years and presenting complete data in a reference database of cystic fibrosis and / or available medical records. Anthropometric information (weight and height for the purpose of calculating BMI) and nutritional status, clinical severity data, colonization of airway secretions in addition to lung function (FEV<sub>1</sub>, FVC and FEV<sub>1</sub>/FVC). All the data collected were the annual evaluation of these subjects, between the period from 2009 to 2013. For statistical purposes, the Friedman test (Dunn's post-test) and the Mann Whitney U test were used.

**Results:** We included 68 patients with CF out of a total of 80 who are regularly followed by the service, with 57.4% being male with a mean age of 10.35 years at baseline. During the five-year follow-up (mean of 3.55 years), nutritional status ( $p = 0.743$ ) and clinical severity score ( $p = 0.235$ ) remained stable. There was a statistically significant reduction of FEV<sub>1</sub>/FVC ratio over the follow-up (from year 2 to year 3 and year 2 to year 5;  $p < 0.05$ ). The most frequent colonizations were oxacillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) (29.8-46.3%), followed by non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* (PA) (8.5-19.4%), *Burkholderia Cepacia* Complex (CBC) (4.9-21.3%), mucoid PA (2.4-6.5 %) and oxacilina/meticilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (2.4- 16.1%). Patients who were colonized throughout the study by MRSA ( $p = 0.040$ ) had a reduction in FEV<sub>1</sub> ( $p = 0.004$ ) and FVC ( $p = 0.005$ ) in year 5 compared to those not colonized by this bacteria. In addition, individuals with non-mucoid BP had a reduction ( $p = 0.007$ ) in FVC.

**Conclusions:** Our findings demonstrate that bacterial colonization by oxacilina/meticilin-resistant *Staphylococcus aureus* and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* is related to worsening lung function (FEV<sub>1</sub> and FVC). However, the impact of the different colonizations on BMI and on the clinical severity of Shwachman-Kulczycki score over the 5 years was not observed.

**Key words:** Microbiology, nutritional status, respiratory function tests, prognosis, cystic fibrosis.

---

---

---

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classes das mutações do gene CFTR.....	21
--	----

### APÊNDICE 1

Figura 1 - Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo .....	57
Figura 2 - Descrição (percentual) dos grupos etários (crianças, adolescentes e adultos) de acordo com o ano de seguimento no presente estudo. ....	56
Figura 3 - Evolução longitudinal do estado nutricional .....	59

### APÊNDICE 2

Quadro 1 - Casos confirmados de coqueluche, de 2007 a 2015.....	75
Figura 1- Variação da incidência de coqueluche em crianças com menos de 1 mês de vida...	73
Figura 2 - Internações por coqueluche entre 2008 e 2015.....	74
Figura 3 - Casos confirmados em crianças com coqueluche com menos de 1 mês de idade e vacinação das gestantes.....	75

---

---

---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quadro clínico relacionado a idade dos pacientes com FC e comorbidades.....	23
Tabela 2 - Exemplificação dos itens avaliados para a pontuação do escore de <i>Shwachman-Kulczycki</i> (29). .....	32

## APÊNDICE 1

Tabela 1 - Caracterização da amostra no primeiro ano de inclusão do presente estudo. ....	54
Tabela 2 - Dados descritivos da idade e a frequência de colonização de acordo com tipo bacteriológico ao longo dos 5 anos de acompanhamento do estudo.....	60
Tabela 3 - Comparação das características clínicas e da função pulmonar do ano 5 de acordo com o tipo de colonização bacteriana ao longo do seguimento do estudo. ....	61

---

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>CA- MRSA</b>	Cepa comunitária de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a oxacilina/meticilina
<b>CBC</b>	Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>
<b>CFTR</b>	Proteína reguladora da condutância transmembrana da FC
<b>CVF</b>	Capacidade vital forçada
<b>DF508</b>	Deleção de fenilalanina na posição 508
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribomucleico
<b>DPN</b>	Diferença do potencial nasal
<b>FC</b>	Fibrose cística
<b>HA- MRSA</b>	Cepa hospitalar de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a oxacilina/meticilina
<b>IRT</b>	Tripsinogênio imunorreativo
<b>MRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a oxacilina/meticilina
<b>MSSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível a oxacilina/meticilina
<b>PA</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>PAM</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> mucoide
<b>PANM</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> não mucoide
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>SA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>S-K</b>	Escore de gravidade Shwachman-Kulczycki
<b>SSCmec</b>	Cassete cromossômico do <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>VEF<sub>1</sub></b>	Volume expiratório forçado no primeiro segundo

---

---

---

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	17
2.1 HISTÓRICO DA DOENÇA	17
2.2 PATOGÊNESE DA FIBROSE CÍSTICA	19
2.2.1 Mutações	19
2.2.2 Regulador da condutância transmembrana (CFTR) da FC	21
2.2.3 Fisiopatologia da doença Pulmonar	22
2.2.4 Quadro Clínico	22
2.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	24
2.3.1 Triagem Neonatal: Dosagem do Tripsinogênio Imunorreativo (IRT)	24
2.3.2 Diferença de potencial nasal-DPN	24
2.3.3 Teste do suor	24
2.3.4 Outros critérios laboratoriais	25
2.4 MICROBIOLOGIA	25
<b>3 OBJETIVOS</b>	27
3.1 OBJETIVO GERAL	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
<b>4 HIPÓTESE</b>	28
<b>5 METODOLOGIA</b>	30
5.1 DELINEAMENTO	30
5.2 AMOSTRA	30
5.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	30
5.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	30
5.5 VARIÁVEIS	30
5.6 FERRAMENTAS PARA AVALIAÇÃO	30
5.7 DADOS ANTROPOMÉTRICOS/ESTADO NUTRICIONAL	30
5.8 DADOS CLÍNICOS	31
5.9 GRAVIDADE CLÍNICA DA DOENÇA	31
5.10 FUNÇÃO PULMONAR	32
5.11 ASPECTOS ÉTICOS	33
5.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
<b>6 RESULTADOS</b>	34

---

---

<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	35
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>APÊNDICE</b> .....	42
APÊNDICE 1 - ARTIGO ORIGINAL 1 .....	43
APÊNDICE 2 - ARTIGO ORIGINAL 2 .....	63
<b>ANEXO</b> .....	81
ANEXO - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA. ....	82

---

## 1 INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é uma das doenças sistêmicas de origem genética mais severa em populações caucasianas, afetando 1 a cada 2000-4000 nascidos vivos, sendo 1 para 23 a 32 indivíduos carreadores saudáveis do gene<sup>(1)</sup>. As principais características da doença são a insuficiência pancreática, desnutrição, aumento dos eletrólitos no suor, infertilidade masculina e principalmente a doença respiratória progressiva, responsável por 95% da mortalidade<sup>(2)(3)</sup>.

Essa enfermidade é causada pela mutação do gene regulador do transporte transmembrana da fibrose cística (CFTR - *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) que codifica a produção da proteína CFTR encontrada em vários epitélios e células sanguíneas e cuja função está relacionada ao transporte iônico e água<sup>(2)(4)</sup>. A alteração genética é autossômica recessiva e leva a falha do desenvolvimento e infecção pulmonar<sup>(5)(6)</sup>.

A incidência é maior em caucasianos descendentes do norte europeu, chegando a 1 para 3000 nascidos vivos, em comparação aos latino-americanos e os afro-americanos (1:15000-20000)<sup>(7)</sup>. A FC acomete aproximadamente 85.000 pessoas em todo o mundo<sup>(8)</sup>. Conforme os últimos registros publicados em 2016, existem 38.985 indivíduos portadores da doença na Europa, 28.983 nos Estados Unidos 4.128 no Canadá, 3.294 na Austrália e 3.511 no Brasil<sup>(9-13)</sup>. Os países de maior prevalência são a Irlanda, Reino Unido e Austrália. O Brasil ocupa o sétimo lugar em pacientes registrados<sup>(14)</sup>. A incidência no Brasil foi relatada por Raskin em 2001, apontando a Região Sul com o maior número de casos<sup>(15)</sup>.

A fibrose cística é uma doença progressiva e, apesar do avanço das terapias endereçadas aos principais sintomas, a sobrevida entre os pacientes homozigotos para a mutação mais prevalente, chegou a 37 anos de idade no período de 2000 a 2010<sup>(16)</sup>. Antes da década de 1950, o óbito ocorria antes de um ano de idade e até 1970 a sobrevida não avançava pela adolescência. O relato de 2014 da *Cystic Fibrosis Foudation Patient Registry* nos Estados Unidos mostrou uma previsão de sobrevida de 39,3 anos<sup>(17)</sup>. O registro demonstrou que, pela primeira vez, o número de adultos com FC ultrapassou o número de crianças com essa doença. Estima-se que em 2015 a sobrevida dos pacientes no Reino Unido tenha alcançado pelo menos 45,1 anos para a metade do grupo registrado agora<sup>(18)</sup>.

---

## Introdução

---

A melhora na sobrevida da doença iniciou nas décadas de 1960 e 1970 com a introdução da fisioterapia respiratória, reposição das enzimas pancreáticas, suplementação nutricional e antibióticos antiestafilocócicos<sup>(19)</sup>. Hoje, o tratamento inclui três pilares principais: 1) antimicrobianos; 2) fluidificação e eliminação do muco através de fisioterapia, uso de drogas mucoativas como a alfadornase e inalação de salina hipertônica; e, 3) suplementação de enzimas pancreáticas e vitaminas<sup>(10)</sup>. O tratamento das infecções respiratórias é crítico, tanto na profilaxia como na erradicação da colonização e, também, no tratamento da infecção crônica e suas exacerbações<sup>(18)</sup>.

As infecções bacterianas crônicas e a inflamação da via aérea, entre outros fatores, são responsáveis pela progressão da doença pulmonar, causando 80-85% dos casos de insuficiência respiratória e óbito<sup>(10)</sup>. Condições que levam a um processo inflamatório exagerado contribuem para um progressivo remodelamento da via aérea que irá refletir na evolução final da doença pulmonar<sup>(20)</sup>. Estudos anteriores já demonstraram os efeitos danosos da colonização/infecção na função pulmonar e no prognóstico dos pacientes com FC. Dentre estas colonizações, o *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa* são os mais frequentemente isolados no trato respiratório dos pacientes cronicamente doentes, contudo, outros patógenos podem estar presentes como *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Streptococcus pneumoniae*<sup>(21)</sup>.

A extensa análise retrospectiva realizada por Hector e colaboradores, envolvendo 770 adolescentes na Alemanha e Áustria, demonstrou forte associação entre colonização por *Pseudomonas aeruginosa* e MRSA e perda de função pulmonar<sup>(22)</sup>. O estudo que envolveu dados de 14.732 pacientes registrados na sociedade europeia de fibrose cística revelou forte efeito da infecção crônica por *Pseudomonas aeruginosa* sobre o VEF<sub>1</sub><sup>(23)</sup>. Além disso, outra análise do registro americano de FC, que envolveu 19.833 pacientes com idades entre 6 e 45 anos, demonstrou um risco de morte significativamente mais elevado entre os pacientes colonizados com MRSA<sup>(24)</sup>. No entanto, até o presente momento, existem poucos estudos de *follow-up* na faixa etária pediátrica que tenham se proposto a investigar a evolução/efeitos de diferentes tipos de colonizações bacterianas sobre o estado nutricional e a gravidade clínica de jovens com FC.

A seguir, será apresentado o referencial teórico que fundamenta esta tese por meio da revisão de literatura sobre a fibrose cística, função pulmonar, escore de gravidade clínica e a microbiologia do escarro. Na sequência, estarão os objetivos, a hipótese e a metodologia do presente trabalho, seguido do artigo original, intitulado: “Impacto de diferentes colonizações

---



## *Introdução*

---

bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com fibrose cística (FC)” (Apêndice 1). Além disso, encontra-se outro artigo desenvolvido nesse período denominado “Impacto da imunização com vacina tríplice bacteriana acelular (dTpa) em gestantes sobre a incidência da coqueluche no Brasil” (Apêndice 2).

---

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DA DOENÇA

A literatura folclórica medieval europeia já citava que avós sabiam que se as crianças, ao serem beijadas, apresentassem gosto salgado da pele, estavam enfeitiçadas e logo morreriam<sup>(25)</sup>. Em 1595 o professor Pieter Pauw, na cidade de Leiden (Países Baixos), descreveu a autópsia de uma menina de 11 anos, muito magra, que apresentava um pâncreas edemaciado e febre quando faleceu. ([www.cfmedicine.com](http://www.cfmedicine.com))

Nos séculos XVII e XVIII alguns pesquisadores também descreveram casos de crianças com “gosto salgado” e óbito precoce. No século XIX várias síndromes foram relatadas em crianças, que hoje se sabe relacionadas à FC, como esteatorréia, íleo meconial e doença celíaca. ([www.cfmedicine.com](http://www.cfmedicine.com))

Nos primeiros 30 anos do século XX foram feitas as primeiras observações associando doenças pulmonares, diarreia e alterações pancreáticas. Neste mesmo período a associação destes sintomas começou a ser chamada de fibrose cística. Guido Fanconi, em 1936, foi provavelmente o primeiro a se referir à doença como “Fibromatose cística com bronquiectasias”, separando estes sintomas da doença celíaca. ([www.cfmedicine.com](http://www.cfmedicine.com))

Margareth Harper, em Sydney, Austrália, em 1936 descreveu uma série de oito casos de crianças que apresentavam fezes oleosas, volumosas e fétidas, que, quando eram maiores apresentavam falha de desenvolvimento, dentes frágeis, anemia e grande suscetibilidade a infecções respiratórias. Analisando esta série de casos e, também, dados da literatura, o diagnóstico de “defeito congênito do pâncreas” poderia ser feito<sup>(26)</sup>.

Apenas em 1938 a FC foi reconhecida como uma enfermidade, quando Dorothy Andersen, uma patologista que atuava no “*The Babie’s Hospital at Columbia Presbyterian Medical Center*”, em Nova Iorque, publicou a descrição de uma síndrome em crianças que incluía falha no desenvolvimento associada à presença de distensão abdominal e diarreia volumosa, fétida e gordurosa. A denominação “Fibrose cística do pâncreas” derivou dos achados histopatológicos no pâncreas de crianças que morreram no período neonatal. Foi

---

observada a presença de material acinzentado, espesso e viscoso que obstruía a via aérea e também ductos de glândulas mucosas presentes em outros órgãos como o trato intestinal. Também descreveu um grupo de 49 crianças em que 44 faleceram por infecção pulmonar causada por *Staphylococcus aureus*<sup>(27)</sup>.

Até 1948 os estudos focavam as anormalidades do muco, mas, neste ano ocorreu uma grande onda de calor no verão americano e o pediatra Paul di Sant' Agnese observou que muitas das crianças portadoras de FC apresentavam intensa prostração e depleção de sal. A partir desta observação foi conduzido um estudo que verificou a quantidade de eletrólitos no suor, comparando um grupo com diagnóstico de FC com outro grupo de pacientes do “*Babies and Presbyterian Hospitals*” com outras afecções. A média dos valores de sódio e potássio nos pacientes com FC se aproximava dos valores séricos, conseqüentemente, suor excessivo levaria à depleção maciça destes eletrólitos<sup>(28)</sup>.

Outra publicação deste grupo examinou 43 pacientes com FC, 9 pacientes com outras afecções pancreáticas e 50 indivíduos controles. Após a permanência em uma sala com temperatura de 32° C por 1-2 horas, foram coletadas amostras de suor em gazes. Os pacientes com FC apresentavam média de 106 mEq/L de cloro, os pacientes com doenças pancreáticas e os pacientes controles apenas 32 mEq/L. O sódio também estava aumentado na população com FC (133 mEq/L, população controle 59 mEq/L). (www.cfmedicine.com)

A partir de um estudo envolvendo 105 crianças com FC abaixo de cinco anos de idade, em 1958 foi elaborado por *Shwachman-Kulczycki* (S-K), um escore clínico que avalia gravidade e ainda hoje é amplamente utilizado. O escore inclui uma avaliação da atividade geral da criança, o estado nutricional, o exame físico e a radiografia do tórax<sup>(29)</sup>.

Em 1959 Gibson & Cooke elaboraram um teste para quantificar os eletrólitos sódio e cloro no suor que estimulava a produção de suor por iontoforese em uma pequena área da superfície do antebraço, ao invés da envoltura do indivíduo em plástico em um ambiente com temperatura elevada<sup>(30)</sup>. O teste ainda é considerado padrão ouro para o diagnóstico da FC, embora seu processo ainda apresente-se complexo<sup>(31)</sup>.

A partir deste entendimento, as pesquisas se concentraram na etiologia genética da enfermidade e foi então iniciada a procura de um possível gene causador da doença.

Em um grupo de 39 famílias de portadores de FC Tsui e colaboradores, usando um fragmento de DNA localizaram um gene no braço longo do cromossoma 7, caracterizando-o como autossômico e recessivo causador da FC<sup>(32)</sup>.

---

Após um esforço colaborativo internacional, em 1989 foi finalmente identificado gene com 250 Kb que, na maioria dos pacientes portadores de FC, apresentava alteração em 3 nucleotídeos que levavam a deleção de fenilalanina na posição 508 (DF508)<sup>(33)</sup>. O gene defeituoso codifica uma proteína que foi denominada como “*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*” (CFTR) encontrada na membrana apical de células epiteliais que revestem as glândulas exócrinas. A ausência ou disfunção deste canal resulta no desequilíbrio das concentrações de íons através da membrana celular. Os fluidos secretados através destas glândulas tornam-se mais viscosos obstruindo os ductos excretórios<sup>(34)</sup>.

Em relação ao histórico do tratamento, na década de 1950 os pacientes começaram a ser assistidos em centros de tratamento com o objetivo de familiarizar os médicos com os sintomas da doença e seu manejo clínico<sup>(35)</sup>. Em 1954 Leroy Matthews estabeleceu um programa terapêutico direcionado as complicações da doença: tratamento da desnutrição, desobstrução das vias e antibioticoterapia para as infecções respiratórias atingindo dramáticos resultados na melhora da sobrevida e qualidade de vida dos pacientes fibrocísticos<sup>(19)</sup>.

O uso de macrolídeos como azitromicina demonstrou seu importante papel no tratamento pelo seu efeito antiinflamatório sendo atualmente incorporado a maioria dos guias terapêuticos<sup>(36)</sup>.

Os moduladores de CFTR, pequenas moléculas que restauram a função transportadora de íons, têm sido utilizados como terapia alvo em pacientes portadores de mutações específicas, demonstrando resultados positivos na evolução dos pacientes fibrocísticos<sup>(14,37)</sup>. Outra abordagem recente é a utilização de terapia genética para corrigir a mutação, a nível de RNA/DNA, e produzir uma proteína CFTR normal que corrige a disfunção originada do seu mal funcionamento, levando a melhora da pulmonar e parâmetros tomográficos<sup>(37)</sup>.

## 2.2 PATOGÊNESE DA FIBROSE CÍSTICA

### 2.2.1 Mutações

São conhecidas quase 2000 variantes no gene CFTR que podem estar relacionadas à fibrose cística. O projeto CFTR2 (*The Clinical and Functional Translation of CFTR*), que reúne dados relacionados ao genótipo e fenótipo de pacientes com fibrose cística, inscritos nos registros nacionais e centros clínicos de vinte e quatro países, identificou que 159 variantes

---

representam 96% de todos os alelos da FC. A variante mais comum é a chamada DF508, identificada em 70% destes pacientes<sup>(38)</sup>. O registro americano de 2014 identificou 86,4 % dos indivíduos com FC portando a mutação DF508, 46,4% homozigotos e 40,1% heterozigotos<sup>(10)</sup>. Apenas 1300 têm sido agrupadas em 6 classes e podem ser relacionadas a danos específicos da proteína CFTR<sup>(39)</sup>.

Mutações de classe I resultam na ausência da produção da proteína, incluem G542X e acontecem em 6% da população doente, sendo 60% em judeus<sup>(10,38)</sup>.

Mutações de classe II comprometem o transporte da proteína até a membrana plasmática e estão presentes em 70% dos pacientes com FC e incluem a DF508, N1303K e I507del<sup>(38)</sup>.

Nas mutações de classe III a proteína alcança a membrana, mas, sua função transportadora encontra-se comprometida como por exemplo na G551D<sup>(38)</sup>.

As mutações de classe I, II e III não apresentam nenhuma função residual da CFTR e os pacientes portadores desta mutação apresentam fenótipos severos da doença, como insuficiência pancreática grave<sup>(40)</sup>.

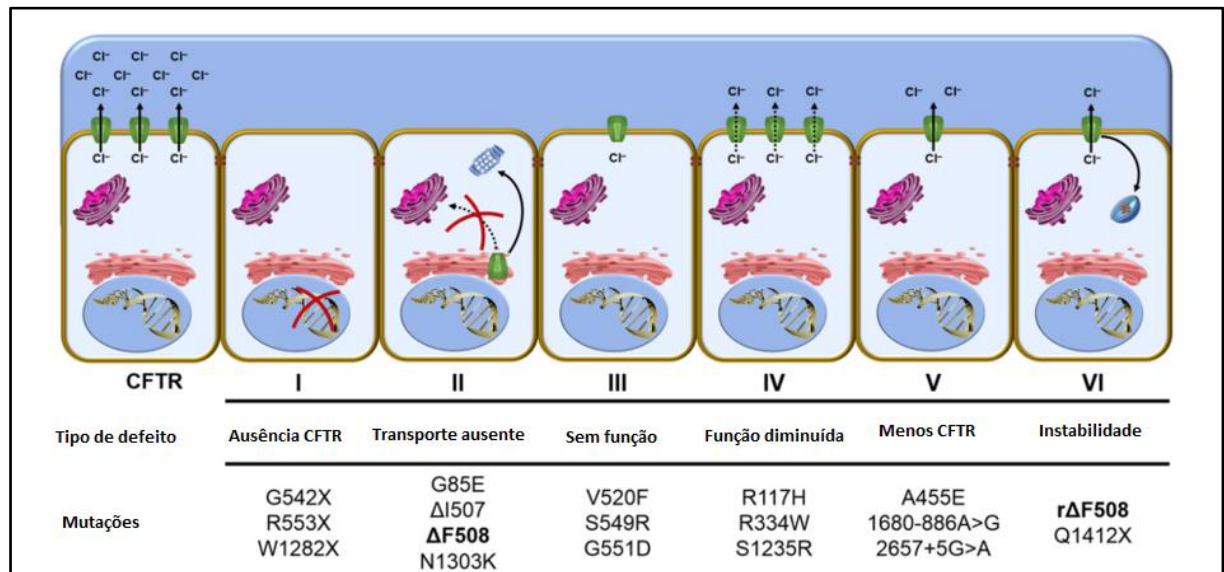
Nas mutações classe IV a abertura do canal iônico não existe<sup>(38,41)</sup> Mutações de classe V levam a quantidades insuficientes de CFTR, por exemplo R117H<sup>(38)</sup>.

Nas mutações de classe VI a CFTR apresenta-se instável na membrana celular sendo removida rapidamente e engloba a chamada ‘*Rescued*’ Phe508del<sup>(38)</sup>.

Indivíduos portadores das mutações das classes IV, V e VI apresentam alguma função residual, o que proporciona fenótipos com doença pancreática e pulmonar mais brandas<sup>(40)</sup>.

A classificação tem facilitado a evolução na pesquisa de terapias personalizadas dirigidas para cada grupo de mutações. Como exemplo, a resposta já comprovada à droga VX-770 (Ivacaftor), aprovada em 2012 pelo “*Food and Drug Administration*” e a associação Ivacaftor/Lumacaftor utilizada para pacientes portadores das mutações de Classe III. Recentemente foi sugerido por Veit et al.<sup>(42)</sup> uma nova classificação estendida que acomodaria a complexa combinação de fenótipos e alelos presentes na FC e compreenderia 31 possíveis classes incluindo as cinco originais e 26 novas combinações<sup>(14,42)</sup>.

---

**Figura 1.** Classes das mutações do gene CFTR.

Com a permissão do autor.<sup>(14)</sup>

### 2.2.2 Regulador da condutância transmembrana (CFTR) da FC

O gene defeituoso codifica uma proteína de 1480 aminoácidos com massa molecular de aproximadamente 170 kDa, localizada na superfície das células epiteliais<sup>(43)</sup>. A proteína consiste em um canal de iônico mediado por adenosina monofosfato cíclico (AMPC) e adenosina trifosfato (ATP) e possui um domínio regulador e dois domínios que se ligam a nucleotídeos<sup>(44)</sup>. A CFTR auxilia na regulação de fluidos e eletrólitos nas células epiteliais de vários tecidos incluindo pulmões, seios da face, pâncreas, intestino, sistema reprodutivo e glândulas sudoríparas<sup>(44)</sup>.

A proteína apresenta um papel importante nos canais iônicos como de sódio, cloro e bicarbonato. Sua disfunção leva a uma hiperabsorção de sódio e água reduzindo a superfície líquida da via aérea, alterando a secreção de cloro e bicarbonato<sup>(45)</sup>. A falta de regulação iônica diminui o pH na superfície líquida da via aérea, aumentando sua viscosidade levando à falha no transporte mucociliar, o que contribui para a instalação de microorganismos e para o remodelamento da via aérea<sup>(46)</sup>. Além disso, há depleção de oxigênio abaixo da interface mucosa-aérea, o que pode favorecer a adaptação de patógenos a um metabolismo anaeróbico<sup>(47)</sup>. A interação da CFTR com outros canais iônicos, particularmente o canal de sódio na membrana

celular e as interações com algumas vias inflamatórias podem apresentar papel importante na fisiopatologia da fibrose cística<sup>(45)</sup>.

### 2.2.3 Fisiopatologia da doença pulmonar

Embora a doença pulmonar da FC esteja relacionada à infecção/colonização bacteriana, a inflamação associada é intensa e ineficaz. A persistência da inflamação leva a um dano estrutural permanente das vias aéreas resultando em insuficiência respiratória e morte<sup>(48)</sup>. A falta de CFTR funcional conduz à perda da secreção de cloreto e bicarbonato para o fluido da superfície das vias aéreas. Material rico em mucina presente nos cílios forma uma rede que adere à superfície da via aérea diminuindo a eliminação das bactérias<sup>(49)</sup>. O pH baixo também inibe a reação antibacteriana do hospedeiro nas vias aéreas.

Os neutrófilos são as primeiras células que migram para o compartimento pulmonar e liberam proteases e agentes oxidantes potencialmente danosos ao tecido pulmonar adjacente<sup>(50)</sup>.

A presença de bronquiectasias está relacionada com altas concentrações da protease elastase e alteram a imunidade inata, aumentam a produção de muco, danificam peptídeos e proteínas nas vias aéreas e digerem a matriz extracelular<sup>(51)</sup>. Também foi demonstrado recentemente que a elastase degrada e danifica a própria CFTR, predispondo à formação de bronquiectasias<sup>(52)</sup>.

Aproximadamente um terço dos pacientes com fibrose cística apresenta bronquiectasias já visíveis em uma tomografia computadorizada nos primeiros meses de vida<sup>(53)</sup>. A presença crônica de microorganismos contribui para a manutenção de um ambiente inflamado, que propicia a presença de bactérias, fungos e vírus<sup>(37)</sup>, contribuindo para o desenvolvimento da falência respiratória progressiva.

### 2.2.4 Quadro clínico

Além da sintomatologia clássica que inclui manifestações pulmonares e gastrointestinais, história familiar e demonstração dos níveis elevados de cloro no suor, muitas comorbidades são hoje reconhecidas em virtude do aumento da sobrevida destes pacientes (Tabela 1)<sup>(14)</sup>. As complicações da FC têm se tornado mais prevalentes à medida que a

---

sobrevida aumenta. A prevalência de doenças ósseas e doença do refluxo gastro esofágico parece aumentar conforme a idade. Sinusite, asma e depressão são mais frequentes nas crianças maiores e adolescentes. A diabetes relacionada à FC tem um pico de incidência ao redor dos 45 anos<sup>(10)</sup>.

**Tabela 1.** Quadro clínico relacionado à idade dos pacientes com FC e comorbidades.

Sintomas/Idade	Lactentes e crianças	Adolescentes e adultos
Trato Respiratório	Pneumonia recorrente e persistente	Atelectasias
	Produção excessiva de muco espesso	Hemoptises
	Tosse crônica	Infecção crônica por patógenos resistentes
	Obstrução das vias aéreas	Aspergilose pulmonar e broncopulmonar alérgica
	Polipose nasal	Pneumotórax
	Sinusopatia	Insuficiência respiratória
	Bronquiectasias	
Trato Gastrointestinal e Sistema Hepático	Íleo meconial	Cirrose/fibrose hepática
	Esteatorréia	Esteatose hepática
	Deficiência de vitaminas lipossolúveis	Refluxo gastroesofágico
	Intussuscepção intestinal	Síndrome da obstrução intestinal
	Pancreatite recorrente	Neoplasia digestiva
	Insuficiência pancreática e biliar	
Sistema Endócrino e Reprodutivo	Ausência de canal deferente	Atraso na puberdade
	Falha no desenvolvimento	Oligomenorréia
		Infertilidade feminina
		Azoospermia masculina
		Diabetes mellitus
		Diminuição da densidade óssea
		Osteoporose
Síndromes de perda de sal	Suor excessivamente salgado	Artrite/vasculite
	Desidratação mucosa	Nefrolitíase
	Hipocloremia	Doença renal crônica
	Hiponatremia	Ansiedade/ depressão
	Hipocalemia	

Adaptado de Lopes-Pacheco, 2016<sup>(14)</sup>



## 2.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

### 2.3.1 Triagem Neonatal: Dosagem do Tripsinogênio Imunorreativo (IRT)

A dosagem do IRT é um indicador indireto da doença que avalia um precursor das enzimas pancreáticas, que costuma estar elevado em recém-nascidos portadores de FC, mesmo antes de instalada a insuficiência pancreática. O aumento acontece pela fibrose pancreática que acarreta em refluxo das enzimas pancreáticas para a circulação. A sensibilidade do exame encontra-se ao redor de 95% e a especificidade até 74%. Considera-se ponto de corte de 70ng/ml no sangue total até 30 dias de vida. Após este período há tendência à normalização mesmo em crianças doentes<sup>(54)</sup>.

### 2.3.2 Diferença de potencial nasal-DPN

Foi confirmado que FC não clássica pode ocorrer na presença de testes do suor limítrofes ou negativos. A medida de DPN é realizada com um milivoltímetro ligado a dois eletrodos (negativo e positivo). Os pacientes portadores de FC apresentam hiperpolarização da membrana mucosa. Seu principal benefício é estabelecer o diagnóstico nos pacientes em que o teste do suor tenha se mostrado duvidoso ou negativo e/ou estudo genético não conclusivo<sup>(55)</sup>.

### 2.3.3 Teste do suor

Determina a concentração dos eletrólitos sódio e cloro no suor, sendo considerado como método padrão-ouro mesmo na atualidade, onde os testes genéticos de análise do DNA são utilizados<sup>(31)</sup>. O teste induz a produção de suor através da iontoforese por pilocarpina e, de acordo com a clássica técnica de Gibson e Cooke, o suor é coletado em filtros de papel ou gazes que são pesadas duas vezes. Posteriormente a uma determinada diluição, é realizada a dosagem do sódio e cloro, cujas concentrações estão elevados nos pacientes com FC (Cloro > 60 mmol/L)<sup>(30)</sup>. Em virtude da complexidade técnica e da quantidade de suor necessária para a realização do exame (> 50 microlitros), novas técnicas de coleta de suor e, também, da dosagem dos eletrólitos têm sido buscadas.

---

O sistema de condutividade utilizando suor coletado em tubos plásticos capilares (Macroduct®) tem sido usado mais amplamente. O sistema mede a capacidade do suor em conduzir a corrente elétrica que depende da concentração dos eletrólitos dominantes no suor ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) transformando a corrente medida em Cloreto de Sódio (NaCl). Estudos mostram que há concordância entre os valores do NaCl da condutividade e da análise química de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Valores considerados alterados na iontoforese  $\text{Cl}^- < \text{ou} > 60 \text{ mmol/L}$  equivalem a  $\text{NaCl} < \text{ou} > 90 \text{ mmol/L}$  na condutância. Valores de cloro superiores a  $60 \text{ mEq/L}$  são considerados positivos, entre  $40\text{-}60 \text{ mEq/L}$  são limítrofes e devem ser repetidos, e  $< 40 \text{ mEq/L}$  são considerados negativos<sup>(56)</sup>.

#### 2.3.4 Outros critérios laboratoriais

- Dosagem de enzimas pancreáticas, que estão geralmente reduzidas.
- Pesquisa de gordura nas fezes.
- Presença de elastase fecal.

#### 2.4 MICROBIOLOGIA

Os pacientes com FC apresentam progressão do seu quadro pulmonar pelos repetidos quadros de inflamação e infecção das vias aéreas<sup>(22)</sup>. Numerosos microorganismos têm sido associados a infecções das vias aéreas cuja prevalência varia de acordo com a idade do paciente<sup>(7,45)</sup>. *Haemophilus influenzae* e *Staphylococcus aureus* sensível à metilina (MSSA) são os patógenos mais precocemente encontrados<sup>(7)</sup>. Na adolescência e na vida adulta a prevalência de MSSA decresce gradualmente e, embora permaneça frequente, não apresenta associação com mau prognóstico<sup>(10)</sup>.

*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são os microorganismos mais frequentemente isolados no trato respiratório dos pacientes cronicamente doentes, contudo, outros patógenos podem estar presentes como *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Streptococcus pneumoniae*<sup>(21)</sup>. A diversidade bacteriana aumenta na infância e atinge seu pico na adolescência, e então, diminui com a idade e com o avanço da doença quando, eventualmente, uma única espécie domina a comunidade microbiana da via aérea<sup>(57)</sup>.

---

O uso de antibióticos e mucolíticos, juntamente com a fisioterapia, reposição enzimática e terapia nutricional são os responsáveis pelo aumento na sobrevida destes pacientes e também são seguidos de mudança na microbiota da via aérea, o que pode alterar o curso da doença<sup>(58)</sup>. Um estudo que avaliou 3219 pacientes do registro europeu de fibrose cística demonstrou que o uso profilático contínuo de drogas antiestafilocócicas levava a um aumento da positividade do escarro para *Pseudomonas aeruginosa*, principalmente, quando o uso do antibiótico era contínuo<sup>(59)</sup>.

Embora se reconheça que as infecções das vias aéreas dos pacientes fibrocísticos possam ser polimicrobianas, *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e *Staphylococcus aureus* ainda são os mais prevalentes, sendo a PA o patógeno dominante, podendo infectar mais da metade dos pacientes adultos e estando fortemente associada com inflamação, diminuição da função pulmonar e aumento da mortalidade<sup>(10,60-62)</sup>.

O *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina/meticilina (MRSA) é um patógeno emergente particularmente importante na fibrose cística e sua frequência tem aumentado de forma dramática<sup>(63)</sup>. Sua prevalência varia geograficamente sendo pouco prevalente nos pacientes registrados em alguns países na Europa (< 10%), chegando a 44,5% de isolamentos de SA em um grupo de pacientes brasileiros<sup>(64-65)</sup>. As cepas da bactéria podem ser classificadas como hospitalares (HA) e comunitárias (CA) por apresentarem características distintas. HA-MRSA usualmente apresenta resistência a múltiplas classes antibióticas enquanto as cepas CA-MRSA apresentam resistência somente aos beta-lactâmicos. CA-MRSA carrega o gene *SSCmec* tipo IV, V e VII que confere a resistência à meticilina mas não a outras classes como as lincosamidas, enquanto o HA MRSA carrega o *SSCmec* tipo I, II e III, que além da resistência à meticilina apresenta, também, resistência para outras classes não beta-lactâmicas<sup>(66)</sup>.

Dasenbrook, em 2008, demonstrou que pacientes com FC e MRSA apresentavam função pulmonar pior se comparados àqueles com MSSA, impactando negativamente à sobrevida<sup>(63)</sup>. Outro estudo com 165 pacientes demonstrou que os pacientes infectados com MRSA estavam associados à mutação DF508, presença de bronquiectasias e hospitalização. Além disso, a queda do VEF<sub>1</sub> foi quase o dobro, se comparado aos não infectados com MRSA<sup>(67)</sup>.

Embora os efeitos deletérios do MRSA já tenham sido demonstrados, algumas questões ainda necessitam ser respondidas. Mais estudos são necessários para elucidar a epidemiologia molecular desta bactéria, bem como estudos sobre o impacto clínico da infecção respiratória por MRSA em pacientes fibrocísticos que vivem em áreas de alta prevalência.

---

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o impacto das diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e a gravidade clínica em pacientes com FC.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Descrever a frequência de colonizações bacterianas ao longo de cinco anos em pacientes com FC em acompanhamento ambulatorial.

Avaliar a evolução do estado nutricional, função pulmonar e a gravidade clínica ao longo de cinco anos em jovens com FC.

---

#### **4 HIPÓTESE**

Diferentes colonizações bacterianas podem causar efeitos deletérios variados sobre o estado nutricional, função pulmonar e a gravidade clínica em pacientes com FC.

---

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 DELINEAMENTO

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo, com cinco anos de seguimento ambulatorial.

### 5.2 AMOSTRA

Indivíduos com o diagnóstico de FC (>3 anos), que estivessem em acompanhamento regular no Ambulatório de Fibrose Cística do Hospital São Lucas da PUCRS.

### 5.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes com o diagnóstico confirmado de FC (idade >3 anos), através do teste do suor (dosagem de cloro) e/ou mutação genética (análise de DNA para pesquisa das mutações do gene CFTR), que tivessem informações antropométricas (estado nutricional), clínicas (colonização bacteriana) e espirométricas disponíveis nos prontuários médicos (ano 1). Todos os dados foram obtidos a partir das informações registradas na avaliação anual (*check-up*) desses pacientes.

### 5.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Sujeitos com informações incompletas quanto às características antropométricas, dados de função pulmonar (espirometria) e sobre a investigação de colonização bacteriana no momento da inclusão do estudo (ano 1). Além disso, foram excluídos aqueles participantes com incapacidade de realizar uma espirometria aceitável e reprodutível de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society/European Respiratory Society*<sup>(68)</sup>.

---

## 5.5 VARIÁVEIS

O Ambulatório de FC do Hospital São Lucas da PUCRS é um centro de referência no atendimento de pacientes com o diagnóstico clínico de FC, atendendo atualmente e regularmente cerca de 80 indivíduos. O atendimento multidisciplinar é realizado pela equipe médica, fisioterapêutica, nutricional e psicológica. Conforme rotina, as consultas ocorrem a cada três meses, no qual os pacientes são submetidos às avaliações antropométricas, clínicas e ao teste de função pulmonar (espirometria). Também são coletadas amostras de *swab* de orofaringe ou escarro espontâneo, para posterior cultura. Nestas ocasiões, são abordadas as questões sobre as terapias em uso, incluindo antibióticos, mucolíticos, salina hipertônica, enzimas pancreáticas, entre outros. Ainda, dentro de uma consulta ambulatorial (anualmente) é realizado o *check-up* desses pacientes, coletando exames laboratoriais, densitometria óssea, radiografia de tórax, testes de capacidade física e aplicado o escore de gravidade *Shwachman-Kulczycki*<sup>(29)</sup>.

Dessa forma, os dados coletados no presente estudo foram obtidos através das informações por meio dos prontuários médicos, coletados no dia do *check-up* desses sujeitos. Todos os dados coletados foram referentes aos atendimentos entre o período de 2009 e 2013.

## 5.6 FERRAMENTAS PARA AVALIAÇÃO

Todas as informações coletadas nos prontuários médicos foram realizadas e registradas por médicos residentes de pneumologia pediátrica e revisadas posteriormente pelo médico responsável do serviço.

## 5.7 DADOS ANTROPOMÉTRICOS/ESTADO NUTRICIONAL

A avaliação antropométrica foi realizada através da mensuração do peso e da altura. O peso foi obtido com os indivíduos em posição ortostática, com o mínimo de roupa, sem calçados e por uma balança analógica. A altura foi obtida com os participantes descalços, com os pés em posição paralela, braços estendidos e com a cabeça em posição neutra. As medidas de altura foram obtidas através de um estadiômetro portátil. A partir dessas aferições, o índice de massa

---

---

corporal (IMC: peso (kg) /altura<sup>2</sup>(m)) foi expresso em valor absoluto e em escore-z, corrigido pela idade e gênero<sup>(69)</sup>.

## 5.8 DADOS CLÍNICOS / MICROBIOLÓGICOS

Foram coletados dados quanto à mutação genética (se investigada), idade de diagnóstico da doença, presença de insuficiência pancreática e quanto à colonização bacteriana. A colonização foi investigada através de cultura de “swab” orofaringe ou de amostras de escarro, dependendo da idade ou estado clínico de cada paciente. Foram registradas as seguintes colonizações ao longo dos cinco anos do estudo: *Staphylococcus aureus* sensível a oxacilina, *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* fenótipo mucóide, *Pseudomonas aeruginosa* fenótipo não mucóide e o Complexo *Burkholderia cepacia* (CBC).

## 5.9 GRAVIDADE CLÍNICA DA DOENÇA

Para avaliação da gravidade da doença, utilizou-se o escore de *Shwachman-Kulczycki*. Esse escore é composto por quatro categorias, sendo que cada aspecto avaliado possui uma pontuação que varia de 5-25 pontos, dependendo do grau de comprometimento de cada paciente. O somatório delas fornece um escore total (máximo de 100 pontos), sendo classificados em excelente (86-100), bom (71-85), médio (56-70), ruim (41-55) e grave ( $\leq 40$ )<sup>(29)</sup>.

---



**Tabela 2.** Exemplificação dos itens avaliados para a pontuação do escore de *Shwachman-Kulczycki* <sup>(29)</sup>.

Graduação	Pontos	Atividade geral	Exame físico	Nutrição	Radiografia de tórax
<b>Excelente (86-100)</b>	25	Atividade íntegra. Brinca, joga bola. Vai à escola regularmente, etc.	Normal. Não tosse. Pulso e respiração normais. Pulmões limpos. Boa postura.	Mantém peso e altura acima do percentil 25; fezes bem formadas; boa musculatura e tônus.	Campos pulmonares limpos.
<b>Bom (71-85)</b>	20	Irritabilidade e cansaço no fim do dia. Boa frequência na escola.	Frequência cardíaca e respiratória normais; tosse esporádica; sem baqueteamento digital; mínimo enfisema.	Peso e altura entre percentis 15 e 20; fezes discretamente alteradas.	Pequena acentuação da trama broncovascular; enfisema leve.
<b>Médio (56-70)</b>	15	Necessita repousar no durante o dia. Cansaço fácil após exercícios. Diminui a frequência à escola.	Tosse ocasional, às vezes pela manhã; frequência respiratória levemente aumentada; enfisema moderado; baqueteamento digital frequente.	Peso e altura acima do percentil 3; fezes anormais, pouco formadas; distensão abdominal leve; hipotrofia muscular.	Enfisema moderado; pequenas atelectasias; aumento da trama broncovascular.
<b>Moderado (41-55)</b>	10	Dispneia após pequenas caminhadas. Repouso em grande parte.	Tosse produtiva frequente, retração torácica; enfisema moderado; pode haver deformidades torácicas; baqueteamento 2-3 +.	Peso e altura abaixo do percentil 3; fezes anormais, fétidas, explosivas; massa muscular flácida.	Enfisema moderado; áreas de atelectasias com áreas de infecção discretas; bronquiectasias.
<b>Grave ≤ 40</b>	5	Ortopnéia, confinado ao leito ou cadeira.	Acessos de tosse frequentes, taquipnéia e taquicardia e extensas alterações pulmonares. Pode haver sinais de falência cardíaca direita; baqueteamento digital 3-4 +.	Desnutrição severa; distensão abdominal intensa; prolapso retal.	Extensivas mudanças obstrutivas; infecções; atelectasia e bronquiectasia.

## 5.10 FUNÇÃO PULMONAR

Foi realizada através da espirometria, por meio do espirômetro *Koko* (PDS Instrumentation, Inc., Louisville, CO, EUA). Os parâmetros espirométricos avaliados incluíram o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>), a capacidade vital forçada (CVF) e a relação do VEF<sub>1</sub>/CVF. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos pela *American Thoracic Society/European Respiratory Society*<sup>(68)</sup>. Os dados espirométricos foram normalizados através de uma equação de referência internacional e apresentados em escore-z<sup>(70)</sup>.

### 5.11 ASPECTOS ÉTICOS

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução n. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 49692115.7.0000.5336. Os autores declaram manter sigilo e confidencialidade dos dados obtidos através da assinatura do termo de confidencialidade para utilização dos dados (TCUD).

### 5.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A simetria das variáveis do estudo foram avaliadas através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. As variáveis que apresentaram distribuição normal foram apresentadas em média e desvio-padrão, enquanto as variáveis assimétricas em mediana e intervalo interquartil. Os dados categóricos foram apresentados em frequência absoluta e relativa. A evolução do estado nutricional, função pulmonar e da gravidade clínica ao longo dos cinco anos foi testada pelo teste de *Friedman*, seguido do pós-teste de *Dunn's*. Já o impacto das diferentes colonizações bacterianas (presença de alguma colonização ao longo dos cinco anos) sobre o estado nutricional, a função pulmonar e a gravidade clínica do ano 5 (último ano) foi avaliado por meio do teste U de *Mann Whitney*. Todas as análises e o processamento dos dados foram realizados com o programa SPSS versão 18.0 (SPSS Inc., EUA). Em todos os casos as diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

---

## **6 RESULTADOS**

Os resultados desse estudo estão apresentados no formato de um artigo disponível no Apêndice 1. Somando-se a isso, essa tese apresenta outro artigo desenvolvido concomitantemente nesse período, apresentado no Apêndice 2.

- Apêndice 1 – Artigo 1 - “Impacto de diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com fibrose cística (FC)”  
Anexo 1 – Comprovante de submissão do artigo para a revista *Jornal Brasileiro de Pneumologia*.
  - Apêndice 2 – Artigo 2 - “Impacto da imunização com vacina tríplice bacteriana acelular (dTpa) em gestantes sobre a incidência da coqueluche no Brasil”. Anexo 2 - Comprovante de submissão do artigo para a revista *Jornal Brasileiro de Pediatria*.
-

## 7 CONCLUSÕES

- O índice de massa corporal e o escore de gravidade clínica de Shwachman-Kulczycki permaneceram estáveis ao longo de cinco anos em pacientes com FC;
  - Houve uma redução significativa da relação VEF<sub>1</sub>/CVF ao longo do acompanhamento ambulatorial em jovens com FC;
  - O *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina influenciou negativamente o VEF<sub>1</sub> e a CVF em pacientes jovens com FC ao longo de cinco anos;
  - A *Pseudomonas aeruginosa* também causou efeitos deletérios na CVF ao longo do seguimento avaliado;
  - No presente estudo, não houve impacto dos diferentes tipos de colonização bacteriana sobre o estado nutricional e o escore de gravidade clínica da doença.
-

---

## 8 REFERÊNCIAS

1. Morral N, Bertranpetit J, Estivill X, Nunes V, Casals T, Giménez J, et al. The origin of the major cystic fibrosis mutation (delta F508) in European populations. *Nat Genet.* 1994;7(2):169-75.
  2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification the Cystic Fibrosis Gene : Cloning and Characterization of Complementary DNA. *Science.* 1989;245:1066-73.
  3. Boat TF, Welsh MJ, Beaudet AL. Cystic Fibrosis. In: Striver CR, Beaudet AL, Sly WS, and D. Valle, editors. *The Metabolic Basis of Inherited Disease.* New York: McGraw-Hill; 1989:2649-2680.
  4. Rich DP, Anderson MP, Gregory RJ, Cheng SH, Paul S, Jefferson DM, et al. Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Nature.* 1990;347:358-63.
  5. Andersen DH. Celiac Syndrome. *Am J Dis Child.* 1946;72(1):62-80.
  6. Farber S, Shwachman H, Maddock CL. Pancreatic function and disease in early life. I. pancreatic enzyme activity and the celiac syndrome. *J Clin Invest.* 1943;20(3):827-33.
  7. O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2009;373(9678):1891-904.
  8. Bobadilla JL, Jr MM, Jason P, Farrell PM. Cystic Fibrosis : A Worldwide Analysis of CFTR Mutations - Correlation With Incidence Data and Application to Screening. *Human Mutation.* 2002;19.
  9. OECD. Government at a Glance. Organisation for Economic Co-operation and Development; 2013. 196 p. Available from: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver>
  10. Marshall BC, Elbert A, Petren K, Rizvi S, Fink A, Ostrenga J, et al. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2014 Annual Data Report. *Cyst Fibros Found.* 2015;1-92.
  11. Cystic Fibrosis. Cystic Fibrosis Canada Registry; 2014. Available from: <https://cysticfibrosis.uberflip.com/i/705240-cystic-fibrosis-canada-registry>.
  12. Cystic Fibrosis. In: 17th Annual Report Australian Cystic Fibrosis Data Registry. Australia; 2014. Available from: [www.cysticfibrosis.org.au/cfa](http://www.cysticfibrosis.org.au/cfa).
  13. GBEFC. Registro Brasileiro de Fibrose Cística; 2014. Available from: [www.gbefc.org.br](http://www.gbefc.org.br).
  14. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol.* 2016 Sep;7:1-20.
-

15. Raskin S. Estudo multicêntrico das bases da genética molecular e da Epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2001.
  16. MacKenzie T, Gifford AH, Sabadosa KA, Quinton HB, Knapp EA, Goss CH, et al. Longevity of patients with cystic fibrosis in 2000 to 2010 and beyond: Survival analysis of the Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. *Ann Intern Med*. 2014;161(4):233–41.
  17. Alexander BM, Petren EK, Rizvi S, Fink A, Ostrenga J, Sewall A, et al. Mission of the Cystic Fibrosis Foundation. Annual Data Report 2015. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry; 2016.
  18. Cystic Fibrosis Trust. Standards for the Clinical Care of Children and Adults with cystic fibrosis in the UK. 2011 Dec;1-32.
  19. Matthews LW, Doershuk CF, Wise M, Eddy G, Nudelman H, Speeter S. A therapeutic regimen for patients with cystic fibrosis. *The Journal of Pediatrics*. 1964;65(4):558-75
  20. Janhsen WK, Arnold C, Hentschel J, Lehmann T, Pfister W, Baier M, et al. Colonization of CF patients' upper airways with *S. aureus* contributes more decisively to upper airway inflammation than *P. aeruginosa*. *Med Microbiol Immunol*. 2016;205(5):485-500.
  21. Gilligan PH. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*. 1991;4:35-51.
  22. Hector A, Kirn T, Ralhan A, Graepler-Mainka U, Berenbrinker S, Riethmueller J, et al. Microbial colonization and lung function in adolescents with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2016;15(3):340-9.
  23. Kerem E, Viviani L, Zolin A, Macneill S, Hatziagorou E, Ellemunter H, et al. Factors associated with FEV1 decline in cystic fibrosis: analysis of the ECFS Patient Registry. *Eur Respir J*. 2014;43:125-33.
  24. Dasenbrook EC, Konstan, Michael W, Lechtzin N, Boyle MP. Association Between Respiratory Tract Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Survival in Cystic Fibrosis. *JAMA*. 2010 Jun 16;303(23):2386.
  25. Massie J, Robinson PJ, Cooper PJ. The story of cystic fibrosis 1965-2015. *J Paediatr Child Health*. 2016;52(11):991-4.
  26. Harper MH. Congenital steatorrhoea due to pancreatic defect. *Arch Dis Child* [Internet]. 1938;13(73):45-56. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1975560&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
  27. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. *Am J Dis Child* [Internet]. 1938 Aug 1 [cited 2017 Jan 29];56(2):344. Available from: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpedi.1938.01980140114013>.
-

- 
28. Sant'agnese PA Di, Darling RC, Perera GA, Shea E. Sweat Electrolyte Disturbances Associated / with Childhood Pancreatic Disease. *Am J Med.* 1953;15:777-84.
  29. Shwachman H. Long-Term Study of One Hundred Five Patients with Cystic Fibrosis. *AMA J Dis Child* [Internet]. 1958 Jul 1 [cited 2016 Nov 17];96(1):6. Available from: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpedi.1958.02060060008002>.
  30. Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959 March;23:545-9.
  31. Mastella G. Sweat testing: can the conductivity analysis take the place of the classic Gibson and Cooke technique? *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 2010;86(2):89-91. Available from: [http://www.jpmed.com.br/conteudo/Ing\\_resumo.asp?varArtigo=2063&cod=&idSecao=1](http://www.jpmed.com.br/conteudo/Ing_resumo.asp?varArtigo=2063&cod=&idSecao=1)
  32. Tsui L, Buchwald M, Barker D, Braman J, Knowlton R, Schumm J, et al. Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA marker. *Science (80- )* [Internet]. 1985 [cited 2017 Feb 4];230(4729):1054-7. Available from: <http://www.mdpi.com/1996-1073/2/3/556/%5Cnhttp://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.2997931>
  33. Kerem B, Rommens J, Buchanan J, Markiewicz D, Cox T, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science (80- )* [Internet]. 1989;245(4922):1073-80. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/245/4922/1073.abstract>.
  34. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: An intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cyst Fibros.* 2002;1(1):13-29.
  35. Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(5):475-82.
  36. Dinwiddie R. Anti-inflammatory therapy in cystic fibrosis. *J Cystic Fibrosis.* 2005;4(Suppl 2):45-48.
  37. Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2016;388(10059):2519-31.
  38. Carter SC, Edward F. Pharmacogenomics Pharmacogenetics of cystic fibrosis. 2016;17:1453-63.
  39. Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, Sharma N, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet* [Internet]. 2013 Oct [cited 2016 Oct 30];45(10):1160-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23974870>.
  40. Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, Tsui L-C, Corey M, Levison H, et al. Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatr* [Internet]. 1995 Nov [cited 2017 Feb 24];127(5):705-10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347695701575>.
-

41. MacDonald KD, McKenzie KR, Zeitlin PL. Cystic fibrosis transmembrane regulator protein mutations: “Class” opportunity for novel drug innovation. *Pediatr Drugs*. 2007;9(1):1-10.
  42. Veit G, Avramescu RG, Chiang AN, Houck SA, Cai Z, Peters KW, et al. From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2016;27(3):424-33. Available from: <http://www.molbiolcell.org/content/27/3/424.long%5Cnhttp://www.molbiolcell.org/cgi/doi/10.1091/mbc.E14-04-0935>.
  43. Welsh M, Ramsey B, Accurso F, Gr C Cystic Fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill;2001:5121–5189.
  44. Abdel-Magid AF. Targeting the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Protein for the Treatment of Cystic Fibrosis. *ACS Med Chem Lett* [Internet]. 2016 Aug 11 [cited 2016 Aug 28];7(8):725-7. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsmchemlett.6b00258>.
  45. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ, City I, City I, City I, et al. Origins of Cystic Fibrosis. *Lung Dis*. 2016;372(4):351-62.
  46. Tang XX, Ostedgaard LS, Hoegger MJ, Moninger TO, Karp PH, McMenimen JD, et al. Acidic pH increases airway surface liquid viscosity in cystic fibrosis. *J Clin Invest*. 2016 Mar; 126(3):879-81.
  47. Cowley ES, Kopf SH, Lariviere A, Ziebis W, Newman DK. Pediatric Cystic Fibrosis Sputum Can Be Chemically Dynamic, Anoxic, and Extremely Reduced Due to Hydrogen Sulfide Formation. *mBio*. 2015 July;6(4):e00767-15.
  48. Cantin AM, Hartl D, Konstan MW, Chmiel JF. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. *J Cyst Fibros* [Internet]. 2015; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.03.003>.
  49. Button B, Cai LH, Ehre C, Kesimer M, Hill DB, Sheehan JK, et al. A periciliary brush promotes the lung health by separating the mucus layer from airway epithelia. *Science* 2012;337:937-41.
  50. Nauseef WM, Borregaard N. Neutrophils at work. *Nat Immunol*. 2014; 15:602-11.
  51. Sly PD, Gangell CL, Chen L, Ware RS, Ranganathan S, Mott LS, et al. Risk Factors for Bronchiectasis in Children with Cystic Fibrosis. *n engl j med* [Internet]. 2013 [cited 2017 Mar 5];36821368(21):1963-70. Available from: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1301725>.
  52. Le Gars M, Descamps D, RousselD, Saussereau E, Guillot L, RuffinM, et al. Neutrophil elastase degrades cystic fibrosis transmembrane conductance regulator via calpains and disables channel function in vitro and in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:170-9.
  53. Quinton PM. Role of epithelial HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in mucin secretion: lessons from cystic fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 Feb
-



- 24];299(6):C1222-33. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20926781>.
54. Folescu TW, Cohen RWF. Avanços no diagnóstico da fibrose cística – Visão crítica ? Rev do Hosp Univ Pedro Ernesto. 2011;10(4):59-65.
55. Leal T, Lebacqz J, Lebecque P, Cumps J, Wallemacq P. Modified Method to Measure Nasal Potential Difference. Clin Chem Lab Med [Internet]. 2003 Jan 27 [cited 2016 Nov 5];41(1). Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/cclm.2003.41.issue-1/cclm.2003.011/cclm.2003.011.xml>.
56. Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. J Pediatr [Internet]. 1994 Feb [cited 2016 Nov 5];124(2):255-60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8301433>.
57. Chmiel JF, Aksamit TR, Chotirmall SH, Dasenbrook EC, Elborn JS, Lipuma JJ, et al. Antibiotic Management of Lung Infections in Cystic Fibrosis I. The Microbiome, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Gram-Negative Bacteria, and Multiple Infections. Ann Am Thorac Soc. 2014 Sep;11(7):1120-9.
58. Zemanick ET, Hoffman LR. Cystic Fibrosis Microbiology and Host Response. Pediatr Clin NA. 2016;63:617-36.
59. Ratjen F, Comes G, Paul K, Posselt HG, Wagner TO, Harms K, et al. Effect of continuous antistaphylococcal therapy on the rate of *P. aeruginosa* acquisition in patients with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol [Internet]. 2001 Jan [cited 2017 Feb 26];31(1):13-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11180669>.
60. Li Z, Kosorok MR, Farrell PM, Laxova A, West SEH, Green CG, et al. Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. Jama. 2005;293(5):581-8.
61. Lipuma JJ. The Changing Microbial Epidemiology in Cystic Fibrosis. Clin Microbiol Rev. 2010 Apr;23(2):299-323.
62. Sagel SD, Gibson RL, Emerson J, McNamara S, Burns JL, Wagener JS, et al. Impact of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* Infection on Inflammation and Clinical Status in Young Children with Cystic Fibrosis. J Pediatr [Internet]. 2009;154(2):183-8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002234760800677X%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002234760800677X>.
63. Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M, Lechtzin N, Boyle MP. Persistent Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Rate of FEV<sub>1</sub> Decline in Cystic Fibrosis. Am J Respir Crit Care Med [Internet]. 2008 Oct 15 [cited 2016 Nov 18];178(8):814-21. Available from: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200802-327OC>.
64. Cocchi P, Cariani L, Favari F, Lambiase A, Fiscarelli E, Gioffré F V, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Italian cystic fibrosis patients: A national overview. J Cyst Fibros. 2011;10:407-11.
-

- 
65. Reiter KC. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III in cystic fibrosis patients in southern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010 Jul-Aug;43(4):377-81.
  66. Ito T, Hiramatsu K, Oliveira DC, De Lencastre H, Zhang K, Westh H, et al. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): Guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):4961-7.
  67. Vanderhelst E, De Meirleir L, Verbanck S, Piérard D, Vincken W, Malfroot A. Prevalence and impact on FEV1 decline of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization in patients with cystic fibrosis. A single-center, case control study of 165 patients. *J Cyst Fibros [Internet]*. 2012;11(1):2-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2011.08.006>.
  68. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005 Aug;26(2):319-38.
  69. Onis M de, Garza C, Onyango AW, Borghi E. Comparison of the WHO child growth standards and the CDC 2000 growth charts. *J Nutr [Internet]*. 2007;137(1):144-8. Available from: <http://jn.nutrition.org/content/137/1/144.full.pdf>.
  70. Quanjer PH, Cole TJ, Hall GL, Culver BH. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3–95 years range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012 december;40(6):1324-43.
-

---

# APÊNDICE

---

## APÊNDICE 1 – ARTIGO ORIGINAL 1

**Impacto de diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com Fibrose Cística.****RESUMO**

**Introdução:** A fibrose cística é uma doença genética autossômica recessiva que se caracteriza principalmente por obstrução e consequente inflamação das vias aéreas levando a instalação crônica de microrganismos. As infecções agudas e/ou colonizações crônicas levam a uma progressiva diminuição da função pulmonar que evolui para falência respiratória, principal causa de morte entre estes indivíduos. Apesar dos avanços alcançados na sobrevida, aspectos relacionados a infecções ainda necessitam ser revisados. O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto de diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e gravidade clínica em pacientes com fibrose cística (FC).

**Métodos:** Este é um estudo de coorte, retrospectivo que incluiu pacientes com diagnóstico confirmado de FC, acima de 3 anos de idade e que tinham dados completos em um banco de dados de um serviço de referência em fibrose cística e/ou disponíveis nos prontuários médicos. Foram coletadas informações antropométricas (peso e altura para fins de cálculo de IMC) e verificação do estado nutricional, dados clínicos de gravidade, colonizações presentes nas secreções das vias aéreas além da função pulmonar (VEF<sub>1</sub>, CVF e relação VEF<sub>1</sub>/CVF). Todos os dados coletados eram referentes a avaliação anual desses sujeitos, entre o período de 2009 a 2013. Para fins estatísticos, utilizou-se o teste de *Friedman* (pós-teste de *Dunn's*) e o teste U de *Mann Whitney*.

**Resultados:** Foram incluídos 68 pacientes com FC de um total de 80 que são acompanhados regularmente pelo serviço, 57,4 % do sexo masculino. Ao longo do seguimento de cinco anos (média de 3,55 anos) o estado nutricional ( $p=0,743$ ) e o escore de gravidade clínica ( $p=0,235$ ) permaneceram estáveis. Houve um aumento estatisticamente significativo da limitação do fluxo aéreo (relação VEF<sub>1</sub>/CVF) ao longo do acompanhamento (ano 2. vs. ano 3 e 5;  $p<0,05$ ). As colonizações mais frequentes foram a *Staphylococcus aureus* sensível a Oxacilina (MSSA) (29,8-46,3%), seguidas da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) não mucóide (8,5-19,4%) e do Complexo *Burkholderia Cepacia* (CBC) (4,9-21,3%). Os pacientes que foram colonizados ao longo do estudo por *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (MRSA) ( $p=0,040$ ) apresentaram uma redução do VEF<sub>1</sub> ( $p=0,004$ ) e da CVF ( $p=0,005$ ) no ano 5, em comparação aos não colonizados por essa bactéria. Além disso, os indivíduos com PA não mucóide apresentaram redução ( $p=0,007$ ) da CVF.

**Conclusões:** Nossos achados demonstram que a colonização bacteriana por MRSA e por PA está relacionada a piora na função pulmonar (VEF<sub>1</sub> e CVF). Todavia, não foi observado impacto das diferentes colonizações sobre o IMC e sobre o escore de gravidade clínica ao longo dos 5 anos.

**Palavras-chave:** Microbiologia, estado nutricional, testes de função respiratória, prognóstico, fibrose cística.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Cystic fibrosis is an autosomal recessive genetic disorder, characterized mainly by obstruction and consequent inflammation of the airways leading to the chronic establishment of microorganisms. Acute infections and/or chronic colonization lead to a progressive decrease in lung function that progresses to respiratory failure, the leading cause of death among these individuals. Despite advances in survival, aspects related to infections still need to be reviewed. The aim of this study was to evaluate the impact of different bacterial colonizations on nutritional status, pulmonary function and clinical severity in patients with cystic fibrosis (CF).

**Methods:** This is a retrospective cohort study that included patients with a confirmed diagnosis of CF, above 3 years of age and who had complete data in a database of a cystic fibrosis reference service and/or available in the medical records. Anthropometric information (weight and height for the purpose of calculating BMI) and nutritional status, clinical severity data, colonization of airway secretions in addition to lung function (FEV<sub>1</sub>, CVC, *tiffenau* index). All the data collected were related to the annual evaluation of these subjects, between the period from 2009 to 2013. For statistical purposes, the Friedman test (Dunn's post-test) and the Mann Whitney U test were used.

**Results:** We included 68 CF patients out of a total of 80 who are regularly followed by the service, 57.4% male. During the five-year follow-up (mean of 3.55 years), nutritional status (p= 0.743) and clinical severity score (p = 0.235) remained stable. There was a statistically significant increase in airflow limitation (FEV<sub>1</sub> / FVC ratio) throughout the follow-up (year 2 vs. year 3 and 5, p <0.05). The most frequent colonizations were Oxacillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) (29.8-46.3%), followed by non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* (PA) (8.5-19.4%) and *Burkholderia Cepacia Complex* (CBC) (4.9-21.3%). Patients who were colonized throughout the study by oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (p = 0.040) had a reduction in FEV<sub>1</sub> (p = 0.004) and FVC (p = 0.005) in year 5 compared to those not colonized by this bacterium. In addition, individuals with non-mucoid BP had a reduction (p = 0.007) in FVC.

**Conclusions:** Our findings demonstrate that bacterial colonization by MRSA and BP is related to worsening lung function (FEV<sub>1</sub> and FVC). However, the impact of the different colonizations on BMI and on the clinical severity score over the 5 years was not observed.

**Key words:** Microbiology, nutritional status, respiratory function tests, prognosis, cystic fibrosis.

## INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é a doença sistêmica, genética (autossômica recessiva), mais frequente em populações caucasianas, afetando um a cada 2000-4000 nascidos vivos<sup>(1)</sup>. A doença se caracteriza pela insuficiência pancreática, desnutrição, aumento dos eletrólitos no suor, infertilidade masculina e, principalmente, pela doença respiratória progressiva, responsável por 95% da mortalidade<sup>(2-3)</sup>. Em caucasianos descendentes do norte europeu, a

incidência chega a 1:3000 nascidos vivos, em latino-americanos e afro-americanos 1:15000-20000<sup>(4)</sup>. Os países de maior prevalência são a Irlanda, Reino Unido e Austrália. O Brasil ocupa o sétimo lugar em pacientes registrados<sup>(5)</sup>, e a incidência relatada por Raskin em 2001 apontou a Região Sul com o maior número de casos, 1:1587 nascidos vivos<sup>(6)</sup>.

O gene defeituoso codifica uma proteína (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* - CFTR) localizada na superfície das células epiteliais que atua como um canal iônico auxiliando na regulação de sódio, cloro, bicarbonato e água<sup>(7)</sup>. Seu mal funcionamento leva a um acúmulo de cloro, hiperabsorção de sódio e água, o que reduz a superfície líquida da via aérea<sup>(8)</sup>. O aumento da viscosidade da secreção da via aérea acarreta na falha no transporte mucociliar, contribuindo para a instalação de microorganismos e remodelamento da via aérea<sup>(9)</sup>, o que leva a progressiva deterioração respiratória, responsável pela maioria dos óbitos nestes pacientes<sup>(3)</sup>.

Numerosos microorganismos têm sido associados a infecções das vias aéreas. A diversidade bacteriana aumenta na infância, e atinge seu pico na adolescência, seguido de uma redução com o passar da idade<sup>(10)</sup>. No entanto, com o avanço da doença, eventualmente uma única espécie domina a comunidade microbiana da via aérea do paciente<sup>(10)</sup>. Na infância, a bactéria mais prevalente é o *Staphylococcus aureus* (SA), quando aproximadamente metade das crianças e adolescentes apresentam culturas positivas para esta bactéria<sup>(11)</sup>. Mais tarde *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e *Staphylococcus aureus* são os mais prevalentes, sendo que a PA pode infectar mais da metade dos pacientes adultos e está fortemente associada com inflamação, diminuição da função pulmonar e aumento da mortalidade<sup>(12-13)</sup>.

*Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina (MRSA) é um patógeno emergente particularmente importante na fibrose cística e sua frequência tem aumentado de forma dramática<sup>(14)</sup>. Embora sua prevalência seja menor<sup>(14)</sup> em países da Europa, Canadá e Austrália, variando de 3 a 13%<sup>(15)</sup>, nos EUA e no Brasil apresentam uma prevalência mais elevada<sup>(12-16)</sup>. O registro americano de FC apresentou um aumento de cinco vezes no número de indivíduos com cultura positiva para MRSA<sup>(12)</sup>. No Brasil, um estudo avaliou os isolamentos positivos para SA em um grupo de pacientes com FC e evidenciou que 44,5% destes eram MRSA<sup>(17)</sup>. Uma metá-análise de 2003 demonstrou que, em pacientes não fibrosos, a bacteremia associada com a MRSA apresentou maior mortalidade do que a bacteremia por MSSA<sup>(18)</sup>. Cepas de MRSA positivas para a leucocidina *Panton-Valentine* podem também estar relacionadas a infecções pulmonares invasivas em pacientes com fibrose cística<sup>(19)</sup>.

Até 2008, pouco se conhecia sobre o efeito da colonização por MRSA sobre a função pulmonar. Não estava claro se o MRSA era apenas um marcador da doença pulmonar mais severa, ou se, de fato, contribuía para o declínio da função pulmonar<sup>(14)</sup>. Vários estudos conseguiram estabelecer a associação entre a presença do MRSA e declínio do VEF<sub>1</sub> e também com a mortalidade mais elevada do que no grupo de pacientes que não haviam sido colonizados<sup>(15,20-21)</sup>. Considerando a elevada frequência de colonização bacteriana e seus efeitos deletérios sobre a função pulmonar em pacientes com FC e a ausência de dados quanto à influência dessas colonizações sobre o estado nutricional e a gravidade clínica nos pacientes brasileiros, justifica-se investigar o impacto dessas colonizações sobre outros marcadores de prognóstico.

O presente estudo tem como principal objetivo avaliar o impacto das diferentes colonizações bacterianas sobre o estado nutricional, função pulmonar e a gravidade clínica em pacientes com FC. Também pretende descrever a frequência das colonizações bacterianas nos cinco anos de seguimento, bem como avaliar a evolução do estado nutricional, função pulmonar e a gravidade clínica durante este período nos pacientes com fibrose cística acompanhados no serviço.

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo, com cinco anos de seguimento ambulatorial.

O Ambulatório de FC do HSL da PUCRS é um centro de referência no atendimento de pacientes com o diagnóstico clínico de FC, atendendo regularmente cerca de 80 indivíduos. Os pacientes são avaliados por uma equipe multidisciplinar com profissionais médicos, fisioterapeutas, nutricionistas e psicólogos. Rotineiramente as consultas ocorrem a cada três meses, onde os pacientes são submetidos às avaliações antropométricas, clínicas e ao teste de função pulmonar (espirometria). São coletadas amostras de *swab* de orofaringe ou escarro espontâneo para posterior cultura. Nestes encontros são abordadas as questões sobre as terapias em uso, incluindo antibióticos, mucolíticos, salina hipertônica, enzimas pancreáticas, entre outros assuntos. Dentro da consulta anual é realizado o *check-up* desses pacientes, sendo realizados exames laboratoriais, densitometria óssea, radiografia de tórax, testes de capacidade física e aplicado o escore de gravidade *Shwachman-Kulczycki*<sup>(23)</sup>. Os dados coletados neste estudo foram obtidos através das informações procedentes dos prontuários médicos coletados no dia do *check-up* anual desses sujeitos. Todos os dados coletados foram referentes aos

atendimentos entre o período de 2009 e 2013 onde as informações colhidas nos prontuários médicos foram registradas por médicos residentes de pneumologia pediátrica e revisadas posteriormente pelo médico responsável do serviço.

Foram incluídos pacientes com mais de três anos de idade que estivessem em acompanhamento regular no ambulatório de Fibrose cística do Hospital São Lucas (HSL) da PUCRS. Os pacientes tinham seu diagnóstico confirmado através do teste do suor (dosagem de cloro) e/ou mutação genética (análise de DNA para pesquisa das mutações do gene CFTR), com informações antropométricas (estado nutricional), clínicas (escore S-K e colonização bacteriana) e espirometria disponíveis nos prontuários médicos no ano 1 do acompanhamento. Todos os dados foram obtidos a partir das informações registradas na avaliação anual (*check-up*) desses pacientes.

Foram excluídos sujeitos com informações incompletas quanto às características antropométricas, dados de função pulmonar (espirometria), escore S-K e sobre a investigação de colonização bacteriana no momento da inclusão do estudo (ano 1). Além disso, foram excluídos aqueles participantes com incapacidade de realizar uma espirometria aceitável e reprodutível de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society/European Respiratory Society*<sup>(22)</sup>.

A avaliação antropométrica foi realizada através da mensuração do peso e da altura. O peso foi obtido com os indivíduos em posição ortostática, com o mínimo de roupa, sem calçados e por uma balança analógica. A altura foi obtida com os participantes descalços, com os pés em posição paralela, braços estendidos e com a cabeça em posição neutra. As medidas de altura foram obtidas através de um estadiômetro portátil. Com os valores de peso e altura foi calculado o índice de massa corpórea (IMC: peso (kg) /altura<sup>2</sup>(m)) que foi expresso em valor absoluto e em escore- z, corrigido pela idade e gênero<sup>(24)</sup>.

Foram coletados dados quanto à mutação genética (se investigada), idade de diagnóstico da doença, presença de insuficiência pancreática e quanto à colonização bacteriana. A colonização foi investigada através de cultura de “swab” orofaríngea ou de amostras de escarro, dependendo da idade ou estado clínico de cada paciente. Foram registradas as seguintes colonizações ao longo dos cinco anos do estudo: *Staphylococcus aureus* sensível a oxacilina, *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* fenótipo mucóide, *Pseudomonas aeruginosa* fenótipo não mucóide e o Complexo *Burkholderia cepacia* (CBC).

---



Para avaliação da gravidade da doença, utilizou-se o escore de *Shwachman-Kulczycki*, que é composto por quatro categorias, sendo que cada aspecto avaliado possui uma pontuação que varia de 5-25 pontos, dependendo do grau de comprometimento de cada paciente. O seu somatório fornece um escore total (máximo de 100 pontos), sendo classificados em excelente (86-100), bom (71-85), médio (56-70), ruim (41-55) e grave ( $\leq 40$ )<sup>(23)</sup>.

A função pulmonar foi realizada através da espirometria, utilizando-se o espirômetro *Koko* (PDS Instrumentation, Inc., Louisville, CO, EUA). Os parâmetros espirométricos avaliados incluíram o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>), a capacidade vital forçada (CVF) e a relação do VEF<sub>1</sub>/CVF. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos pela *American Thoracic Society/European Respiratory Society*<sup>(22)</sup>. Os dados espirométricos foram normalizados através de uma equação de referência internacional e apresentados em escore-z<sup>(25)</sup>.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução n. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à dignidade dos voluntários. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 49692115.7.0000.5336. Os autores declaram manter sigilo e confidencialidade dos dados obtidos através da assinatura do termo de confidencialidade para utilização dos dados (TCUD).

As principais variáveis do estudo foram avaliadas através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. As variáveis que apresentaram distribuição normal foram apresentadas em média e desvio-padrão, enquanto as variáveis assimétricas em mediana e intervalo interquartil. Os dados categóricos foram apresentados em frequência absoluta e relativa. A evolução do estado nutricional, função pulmonar e da gravidade clínica ao longo dos cinco anos foi testada pelo teste de *Friedman*, seguido do pós-teste de *Dunn's*. O impacto das diferentes colonizações bacterianas (presença de alguma colonização ao longo dos cinco anos) sobre o estado nutricional, a função pulmonar e a gravidade clínica do ano 5 (último ano) foi avaliado por meio do teste U de *Mann Whitney*. Todas as análises e o processamento dos dados foram realizados com o programa SPSS versão 18.0 (SPSS Inc., EUA). Em todos os casos as diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

---

De um total de 80 pacientes em atendimento regular com o diagnóstico com FC, 12 (15,0%) foram excluídos (ano 1) por apresentarem seus dados incompletos e/ou por não conseguirem realizar uma espirometria aceitável e reproduzível de acordo com as diretrizes internacionais.

Ao longo dos cinco anos de acompanhamento (média de 3,55 anos) os dados estiveram disponíveis (completos) em 68 (100,0%) pacientes no ano 1, 56 (82,3%) no ano dois, 47 (69,1%) no ano três, 41 (60,3%) no ano quatro e 31 (45,6%) indivíduos no ano 5. Apenas um paciente foi a óbito por insuficiência respiratória durante o acompanhamento. As perdas amostrais durante os cinco anos de seguimento foram pela ausência de dados relacionados ao estado nutricional, função pulmonar ou quanto ao escore de gravidade clínica.

No ano 1 do estudo (n=68), a média de idade dos participantes foi de 10,35 anos, sendo 57,4% masculinos e 98,5% caucasianos. O IMC (escore-z) encontrou-se dentro da normalidade para quase todos os pacientes, com exceção de um participante (escore-z: -2,23). Trinta e dois pacientes tiveram sua avaliação genética realizada e a maioria apresentou pelo menos um alelo para o gene  $\Delta F508$  (81,25%). A insuficiência pancreática estava presente em 98,5% dos pacientes e a maioria apresentou um escore S-K acima de 60 (médio, bom ou excelente).

Quando analisado o VEF<sub>1</sub>, 32 pacientes apresentaram valores dentro dos limites da normalidade (escore-z > -1,645), enquanto 36 obtiveram valores abaixo do esperado. Quanto a relação VEF<sub>1</sub>/CVF, 50 sujeitos obtiveram valores dentro dos limites da normalidade (escore-z > -1,645) e 18 apresentaram redução desse parâmetro investigado (escore-z < -1,645). A tabela 1 apresenta dos dados antropométricos, clínicos e pulmonares da amostra no momento da inclusão no estudo.

A maior parte da amostra no momento da inclusão foi classificada como criança (0 a 12 anos incompletos), seguido de adolescentes (>12 e <18 anos) e de amostra adulta (> 18 anos), havendo uma diminuição esperada da faixa etária infantil (ano 1: 66,2% vs. ano 5: 12,9%), incremento de adolescentes (ano 1: 27,9% vs. ano 5: 70,9%) e de adultos (ano 1: 5,9% vs. ano 5: 16,1%) ao longo do seguimento ambulatorial. A figura 1 apresenta graficamente a mudança etária nessas categorias ao longo dos cinco anos.

A figura 2 apresenta a evolução do estado nutricional, função pulmonar e do escore de gravidade clínica S-K ao longo do período avaliado (n=31). Embora o estado nutricional (p=0,743) e o escore de gravidade clínica (p=0,235) tenham permanecido estáveis ao longo do seguimento, houve uma redução estatisticamente significativa do índice de *tiffeneau* entre o

---

Ano 2 [ -0,71 (-1,47 – 0,22) e o Ano 3 [ -1,23 (-2,04 – -0,27);  $p < 0,05$ ] e do Ano 2 [ -0,71 (-1,47 – 0,22) com o Ano 5 [-0,96 (-1,91 – -0,35);  $p < 0,01$ ] ao longo do acompanhamento ambulatorial. Embora pareça existir uma tendência de declínio no VEF<sub>1</sub> ( $p = 0,104$ ) e na CVF ( $p = 0,179$ ), não houveram diferenças significativas.

A tabela 2 apresenta a frequência das colonizações bacterianas apresentadas de acordo com o ano de seguimento no estudo. As colonizações mais frequentes ao longo dos cinco anos foram a *S. aureus* sensível a Oxacilina (29,8% no ano 3 a 46,3% no ano 3) seguidas da *Pseudomonas aeruginosa* não mucóide (8,5% no ano 3 a 19,4% no ano 5) e do Complexo *Burkholderia Cepacia* (CBC) (4,9% no ano 4 a 21,3% no anos 3).

Quando se avaliou o impacto das diferentes colonizações bacterianas presentes em algum momento ao longo do período estudado, sobre os desfechos no ano 5, percebeu-se que as colonizações bacterianas não afetaram significativamente o estado nutricional ( $p = 0,743$ ) e o escore de *Shwachman-Kulczycki* ( $p = 0,235$ ). No entanto, os pacientes que foram colonizados em algum momento ao longo dos cinco anos do estudo por *S. aureus* resistente a Oxacilina (MRSA) apresentaram uma redução do VEF<sub>1</sub> ( $p = 0,004$ ) e da CVF ( $p = 0,005$ ), quando comparados aos não colonizados. Além disso, os indivíduos colonizados por *Pseudomonas aeruginosa* não mucoide apresentaram redução da CVF ( $p = 0,007$ ). A tabela 3 apresenta os dados especificadamente do estado nutricional, função pulmonar e da gravidade clínica de acordo com o tipo de colonização bacteriana sofrida ao longo dos cinco anos de *follow-up*.

## DISCUSSÃO

Os achados do presente estudo demonstram que a presença de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina está associada com o declínio da função pulmonar, impactando negativamente sobre o VEF<sub>1</sub> e CVF em cinco anos de acompanhamento de jovens com FC pertencentes a um centro de referência. Verificou-se também que a presença de *Pseudomonas aeruginosa* não mucoide impactou significativamente na piora da CVF no quinto ano do estudo. No entanto, não houve efeitos deletérios das colonizações bacterianas sobre o estado nutricional e o escore de gravidade clínica S-K.

A nossa amostra revelou uma importante mudança etária ao longo do acompanhamento ambulatorial, havendo um crescimento da fase infantil para a adolescência e a vida adulta. O período de transição da faixa etária pediátrica para a vida adulta vem sendo recentemente

---

discutido por alguns autores, considerando que o desenvolvimento no cuidado com as crianças/adolescentes e a capacitação dada às famílias, auxiliam uma maior adesão ao tratamento na vida adulta e conseqüentemente aumentam a expectativa de vida desses pacientes<sup>(26-27)</sup>. Tais resultados são realidades vistas em outros centros referência de pacientes com FC, incluindo os Estados Unidos, Canadá, Austrália e demais países Europeus. Na Austrália em 2014, 26 % são adolescentes<sup>(11)</sup>, no Reino Unido 59,9 % dos pacientes têm mais que 16 anos (28) e nos EUA 50,6% são maiores de 18 anos<sup>(12)</sup>. No registro brasileiro de FC de 2014, 56,7% dos pacientes estavam acima dos dez anos de idade<sup>(29)</sup>. Dados de uma análise de 41 pacientes com FC e seus pais revelou que o conhecimento dos adolescentes sobre a doença está associado com adesão a algumas terapias e que a educação dos pais nesta faixa etária sobre a doença pode melhorar ainda mais as taxas de adesão ao tratamento<sup>(30)</sup>.

Também foi possível evidenciar uma redução significativa do índice de *tiffeneau* ao longo dos cinco anos de acompanhamento, indicando um declínio progressivo da função pulmonar ao longo do tempo em jovens com FC. Da mesma forma uma pesquisa epidemiológica americana demonstrou uma redução da função pulmonar ao longo de 9 anos de seguimento em adolescentes e adultos com FC, indicando um declínio anual maior (-2,89%) no VEF<sub>1</sub> dos adultos, em comparação aos sujeitos adolescentes (-1,59%)<sup>(31)</sup>.

Nosso estudo não demonstrou instabilidade no estado nutricional e o no escore de gravidade clínica S-K ao longo do período avaliado, provavelmente por se tratar de uma amostra composta por sujeitos jovens, com predomínio de crianças/adolescentes e também por serem pacientes em atendimento regular ambulatorial, com acompanhamento de uma equipe multidisciplinar. Acreditamos que o estado nutricional preservado e a boa pontuação no escore S-K apresentado no ano da inclusão possam ter colaborado para a manutenção desses resultados ao longo do estudo.

Na infância aproximadamente metade das crianças e adolescentes apresentam culturas positivas para *Staphylococcus aureus*<sup>(11)</sup>, o mesmo ocorrendo na nossa amostra em que o MSSA foi o microorganismo mais frequente, variando de 29,8 a 46,3% ao longo dos cinco anos de acompanhamento.

Dados prévios indicam também que a prevalência do MRSA vem crescendo dramaticamente nos últimos anos em vários países, incluindo os EUA, que no período de 2000 a 2014 apresentou um aumento de cinco vezes no número de pacientes com FC colonizados por esta bactéria<sup>(12)</sup>. O registro americano de FC relatou a incidência de 4,2% de MRSA em 1999, enquanto em 2013 cerca de 24,9% de todos os pacientes estavam colonizados<sup>(12)</sup>. Canadá e

alguns países da Europa apresentam uma prevalência menor, variando entre 3 e 13%<sup>(15)</sup>. Além disso, outro estudo, realizado em 2010 no Brasil, relatou que em 144 isolamentos de SA em portadores de FC, 44,5% deles eram MRSA<sup>(17)</sup>. No nosso estudo, a prevalência de MRSA também parece aumentar ao longo dos cinco anos de acompanhamento, chegando a até 16,1% no ano cinco do presente estudo, o que confirma o crescente aumento dessa colonização na via aérea desses pacientes.

Nossos achados evidenciaram efeitos negativos do MRSA sobre o VEF<sub>1</sub> e a CVF em pacientes com FC, impactando de maneira acentuada a função pulmonar desses jovens. Da mesma forma, um estudo de *follow-up* que acompanhou os pacientes por dez anos, também evidenciou que o MRSA foi associado a um declínio mais veloz da função pulmonar<sup>(14)</sup>. A análise de sobrevida desses pacientes revelou que o risco de morte era 1,27 vezes maior no grupo colonizado, quando comparado com o grupo que nunca havia sido colonizado e quando comparado ao grupo que conseguiu erradicar a colonização por um ano<sup>(20)</sup>.

Embora um estudo prévio tenha demonstrado haver sucesso na erradicação de 81% nos casos de MRSA, através do regime antibiótico baseado na sensibilidade bacteriana, descolonização tópica, oral, nasal e cutânea, ainda não existe nenhum consenso para o manejo da MRSA em FC<sup>(32)</sup>. Existem evidências limitadas que apoiam a utilização de qualquer antimicrobiano específico para o tratamento das exacerbações associadas ao MRSA na FC. A vancomicina é uma opção de tratamento de primeira linha, embora a diminuição da sua sensibilidade e sua toxicidade sejam fatores limitantes para o seu uso<sup>(33)</sup>. A linezolida pode ser considerada uma alternativa, mas, dados adicionais são necessários para identificar a estratégia de dosagem ideal nesta população<sup>(33)</sup>. Tais resultados evidenciam a necessidade da elaboração de diretrizes para o manejo dessa bactéria que abordem e comparem as terapêuticas mais utilizadas no seu tratamento, bem como as novas intervenções ainda não descritas que visem a sua erradicação. Essas informações podem auxiliar de maneira direta na melhora do prognóstico clínico e no aumento da expectativa de vida desses pacientes.

A PA continua sendo o microorganismo de maior prevalência na idade adulta, embora sua frequência apresente-se em queda desde a década de 2000<sup>(12)</sup>. No nosso grupo de pacientes jovens, a PA foi a colonização menos frequente, o que pode ser atribuído à pequena parte da nossa amostra ser composta por adultos. A influência da colonização dessa bactéria sobre a função pulmonar foi estabelecida há vários anos, indicando efeitos severos sobre o prognóstico clínico desses pacientes. Na Suécia, uma análise de 25 anos do registro nacional de pacientes com FC, apontou que os pacientes colonizados apresentavam queda mais rápida da função

---

---

pulmonar, em comparação aos não colonizados<sup>(34)</sup>. No presente estudo, somente a PA não mucoide apresentou efeito deletério sobre a CVF nos pacientes colonizados, enquanto a colonização pela PA mucoide não impactou de modo significativo na função pulmonar. Tal fato pode ser explicado devido a maior frequência de colonização por PA não mucoide do que a PA mucoide, o que limitaria o poder das análises para essa última colonização.

Assim, sugere-se que os centros de referência de atendimento desses pacientes devam se preocupar com ambas colonizações bacterianas, tratando pontualmente e/ou erradicando esses microrganismos quando presentes no escarro.

Uma das principais limitações do presente estudo foi a utilização de uma base de dados secundária, através de um banco de dados do serviço ambulatorial, o que pode justificar a ausência de informações quanto os desfechos clínicos e pulmonares investigados ao longo dos cinco anos de acompanhamento. No entanto, acredita-se que esse ponto não tenha comprometido as análises realizadas, considerando que nossa amostra apresenta tamanho e tempo de seguimento adequado para detectar possíveis efeitos deletérios dos diferentes tipos de colonização bacteriana sobre os desfechos aqui investigados.

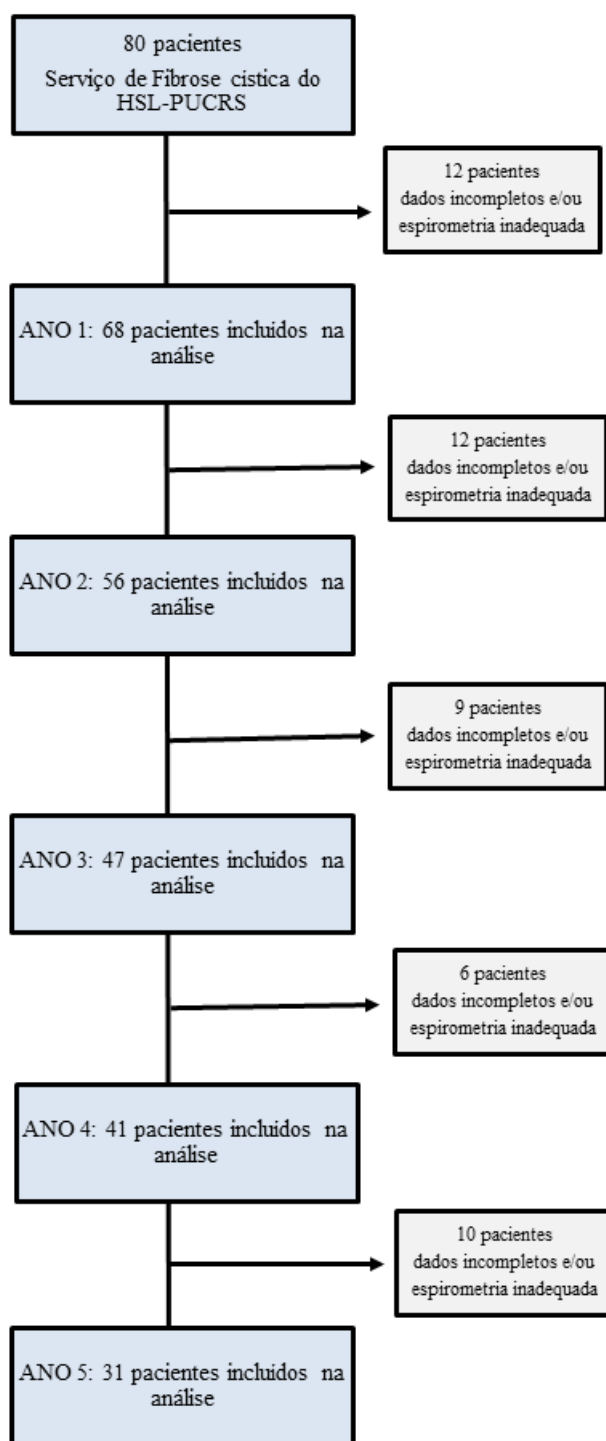
Em resumo, nossos achados demonstram que a presença de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina e à *Pseudomonas aeruginosa*, impacta negativamente sobre a função pulmonar em pacientes jovens com FC em acompanhamento regular. No entanto, não houve impacto dos diferentes tipos de colonização bacteriana sobre o estado nutricional e o escore de gravidade clínica da doença. Esses achados indicam a necessidade de elaboração de estratégias terapêuticas direcionadas para a erradicação destas bactérias, considerando que a função pulmonar é um dos principais parâmetros de prognóstico clínico desses pacientes.

---

Tabela 1. Caracterização da amostra no primeiro ano de inclusão do presente estudo.

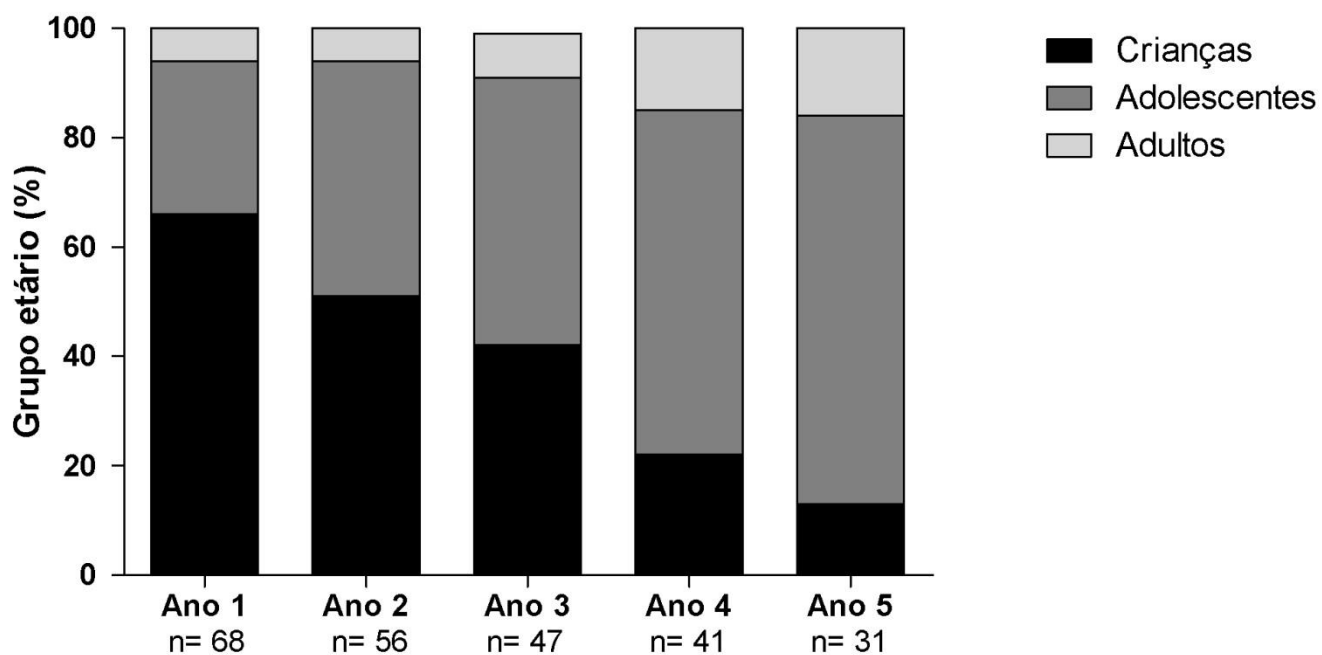
Variáveis avaliadas	N=68	Varição (mínima-máxima)
<i>Demográficas</i>		
Idade, anos	10,35±3,98	3,68 – 22,47
Sexo masculino, n (%)	39 (57,4)	–
Caucasianos, n (%)	66 (97,1)	–
<i>Antropométricas</i>		
Peso, kg	35,19±14,18	15,00 – 69,20
Altura, cm	136,20±19,73	100,0 – 176,0
IMC, absoluto	18,13±3,21	13,61 – 27,52
IMC, escore-z	0,16 (-0,45 – 1,21)	-2,23 – 3,75
<i>Clínicas</i>		
Idade do diagnóstico da doença, anos	4,94 (1,85 – 8,15)	0,00 – 20,47
Genótipo com pelo menos um alelo $\Delta$ F508, n (%)*	26 (81,25)	–
Insuficiência pancreática, n (%)	60 (88,23)	–
Escore de <i>Shwachman-Kulczycki</i>	89,03 (±11,36)	60 – 100,0
<i>Função pulmonar, escore-z</i>		
VEF <sub>1</sub>	-1,75 (-2,91 – -0,70)	-7,41 – 3,12
CVF	-0,04 (-1,67 – 0,91)	-6,22 – 4,38
VEF <sub>1</sub> /CVF	-0,93 (-1,76 – 0,26)	-3,55 – 2,01

Dados contínuos expressos em média±desvio padrão ou em mediana (intervalo interquartil); Variáveis categóricas apresentadas em frequência absoluta e relativa; \* Dados disponíveis de 32 pacientes; IMC: índice de massa corporal; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada.

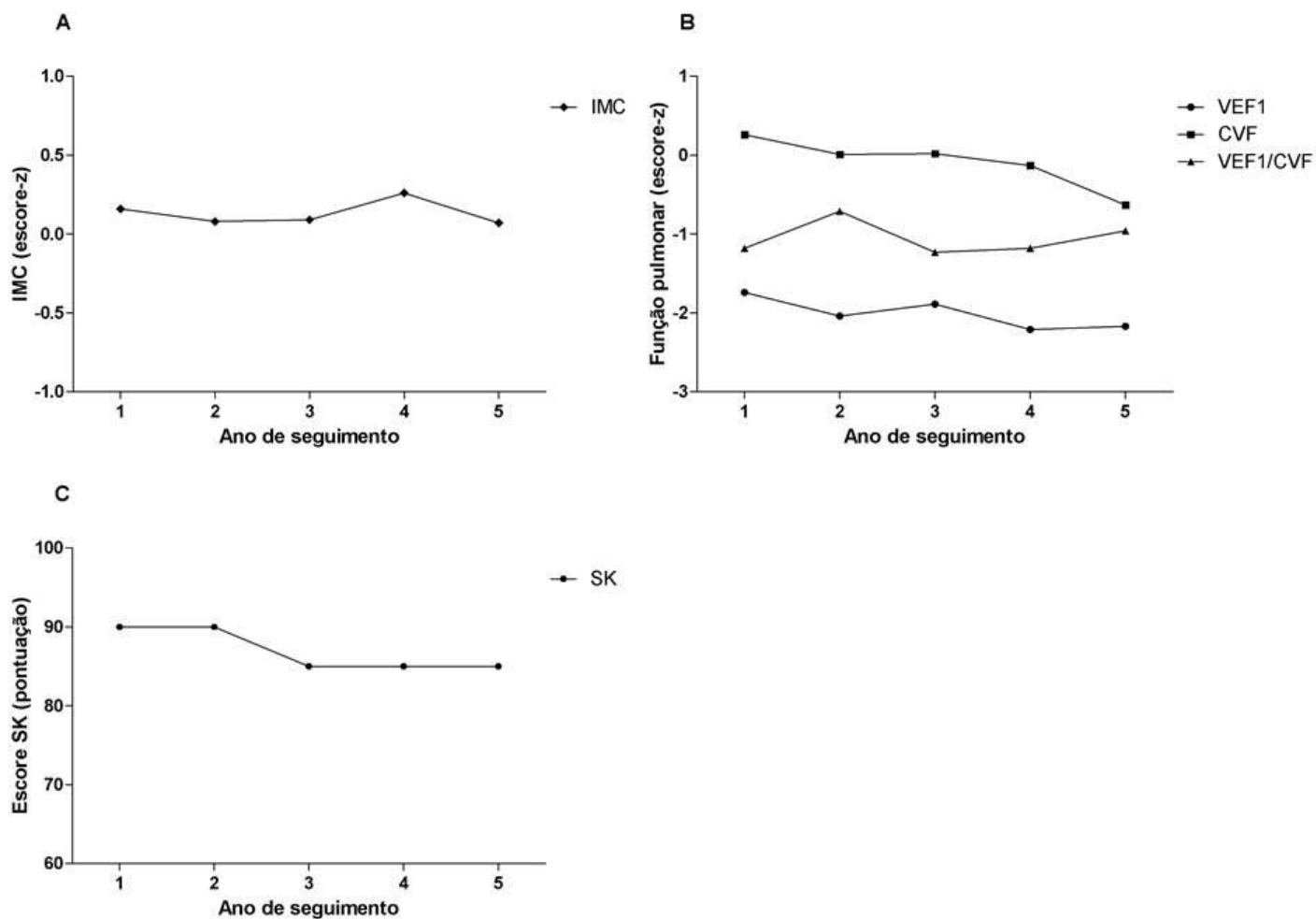


**Figura 1.** Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo.





**Figura 2.** Descrição (percentual) dos grupos etários (crianças, adolescentes e adultos) de acordo com o ano de seguimento no presente estudo.



**Figura 3.** Evolução longitudinal do estado nutricional (A), função pulmonar (B) e da gravidade clínica (C) dos pacientes com FC (n=31). Diferenças significativas foram encontradas na relação VEF1/CVF [Ano 2: -0,71 (-1,47 – 0,22) vs. Ano 3: -1,23 (-2,04 – -0,27);  $p < 0,05$  / Ano 2: -0,71 (-1,47 – 0,22) vs. Ano 5: -0,96 (-1,91 – -0,35);  $p < 0,01$ ]. Valor de p refere-se ao teste de Friedman (pós-teste de Dunn's).

*Apêndice 1 - Artigo Original 1*

**Tabela 2.** Dados descritivos da idade e a frequência de colonização de acordo com tipo bacteriológico ao longo dos 5 anos de acompanhamento do estudo.

<b>Variáveis avaliadas</b>	<b>Ano 1 – 2009</b>	<b>Ano 2 – 2010</b>	<b>Ano 3 – 2011</b>	<b>Ano 4 – 2012</b>	<b>Ano 5 –2013</b>
	<b>(N=68)</b>	<b>(N=56)</b>	<b>(N=47)</b>	<b>(N=41)</b>	<b>(N=31)</b>
<i>Dados Demográficos</i>					
Idade, anos	10,37±4,0	11,69±3,97	13,08±3,66	14,36±3,60	15,77±3,70
<i>Tipos de colonização, n (%)</i>					
Complexo Burkholderia Cepacia (CBC)	06 (8,8)	04 (7,1)	10 (21,3)	02 (4,9)	06 (19,4)
<i>S. aureus</i> resistente a Oxacilina	02 (2,9)	00 (0,0)	5 (10,6)	01 (2,4)	05 (16,1)
<i>S. aureus</i> sensível a Oxacilina	27 (39,7)	21 (37,5)	14 (29,8)	19 (46,3)	12 (38,7)
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> mucoide	03 (4,4)	03 (5,4)	3 (6,4)	01 (2,4)	02 (6,5)
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> não mucoide	12 (17,7)	05 (8,9)	4 (8,50)	06 (14,6)	06 (19,4)
Nenhuma colonização	18 (26,5)	23 (41,1)	11 (23,4)	12 (29,3)	00 (0,0)

Variáveis categóricas apresentadas em frequência absoluta e relativa

*Apêndice 1 - Artigo Original 1*

**Tabela 3. Comparação das características clínicas e da função pulmonar do ano 5 de acordo com o tipo de colonização bacteriana ao longo do seguimento do estudo.**

Tipo de colonização	Estado nutricional, escore-z	Gravidade da doença, escore	Função pulmonar, escore-z		
			IMC	<i>Shwachman-Kulczycki</i>	VEF <sub>1</sub>
<b>Complexo Burkholderia Cepacia (CBC)</b>					
Não	0,07 (-0,61-0,81)	87,5 (75-95)	-2,16 (-3,28-(-0,88))	-0,63 (-1,65-0,54)	0,78 (-1,83-(-0,34))
Sim	0,17 (-0,41-0,41)	80,5 (70,5-90,5)	-2,28 (-2,1-(-0,67))	-0,48 (-1,40-1,44)	-1,55 (-2,40-(-0,70))
Valor do p	0,620	0,590	0,841	0,532	0,355
<b>S. aureus Resistente a Oxacilina</b>					
Não	0,38(-0,49-0,77)	90 (75-95)	-1,79 (-2,63-(-0,69))	0,05 (-1,20-0,84)	-0,81 (-1,70-(-0,32))
Sim	-0,05 (-0,99-0,24)	80 (70-85)	-3,82 (-5,31-(-3,00))	-2,41 (-3,62-(-1,38))	-2,39 (-2,87-(-0,65))
Valor do p	0,275	0,207	<b>0,004</b>	<b>0,005</b>	0,133
<b>S. aureus Sensível a Oxacilina</b>					
Não	0,56 (-1,02-1,02)	85 (75-95)	-2,60 (-3,68-(-1,09))	-1,05 (-2,05-0,65)	-1,61 (-2,31-(-0,37))
Sim	0,05 (-0,33-0,38)	85 (75-95)	-1,59 (-2,48-(-0,65))	0,10 (-1,39-1,01)	-0,65 (-1,99-(-0,35))
Valor do p	0,497	0,818	0,097	0,268	0,213
<b>Pseudomonas Aeruginosa Mucóide</b>					
Não	0,07 (-0,61-0,74)	85 (75-95)	-2,17 (-3,05-(-0,88))	-0,84 (-1,50-0,36)	0,85 (-1,83-(-0,34))
Sim	0,04 (-0,30-0,38)	90 (85-95)	-2,01 (-3,32-(-0,70))	1,36 (0,81-1,92)	-2,59 (-3,49-(-1,69))
Valor do p	0,746	0,476	1,000	0,64	0,117
<b>Pseudomonas Aeruginosa Não Mucóide</b>					
Não	0,30 (-0,52-0,74)	85 (75-95)	-2,48 (-3,42-(-1,13))	1,06 (-1,65-0,26)	-1,41 (-1,99-(-0,34))
Sim	-0,14 (-0,64-0,66)	95 (85-95)	-0,69 (-1,53-(-0,69))	0,70 (0,24-1,66)	-0,62 (-1,34-(-0,05))
Valor do p	0,600	0,207	0,120	<b>0,007</b>	0,582

apresentados em mediana e IQ (intervalo interquartilico); IMC: índice de massa corporal; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; Valor do p refere-se ao teste *U de Mann Whitney*.

Valores

**REFERÊNCIAS**

1. Morral N, Bertranpetit J, Estivill X, Nunes V, Casals T, Giménez J, et al. The origin of the major cystic fibrosis mutation (delta F508) in European populations. *Nat Genet.* 1994;7(2):169–75.
  2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon NO a, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification the Cystic Fibrosis Gene : Cloning and Characterization of Complementary DNA. *Science (80- ).* 1989;245:1066–73.
  3. Boat TF, Welsh MJ, Beut AL. Cystic Fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* New York: McGraw-Hill; 1989: 2649-80.
  4. Farber S, Shwachman H, Maddock CL. Pancreatic function and disease in early life. I. pancreatic enzyme activity and the celiac syndrome. *J Clin Invest.* 1943;20(3):827–33.
  5. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol [Internet].* 2016;7(September):1–20. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2016.00275>
  6. Raskin S. Estudo multicêntrico das bases da genética molecular e da epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná;2001.
  7. Welsh M, Ramsey B, Accurso F, Gr C. Cystic Fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* New York: McGraw-Hill;2001. p. 5121-89.
  8. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ, City I, City I, City I, et al. Origins of Cystic Fibrosis Lung Disease. 2016;372(4):351–62.
  9. Tang XX, Ostedgaard LS, Hoegger MJ, Moninger TO, Karp PH, McMenimen JD, et al. Acidic pH increases airway surface liquid viscosity in cystic fibrosis. *J Clin Invest.* 2016 Mar;126(3):879-81.
  10. Chmiel JF, Aksamit TR, Chotirmall SH, Dasenbrook EC, Elborn JS, Lipuma JJ, et al. Antibiotic Management of Lung Infections in Cystic Fibrosis I. The Microbiome, Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, Gram-Negative Bacteria, and Multiple Infections. *Ann Am Thorac Soc.* 2014 Sep;11(7):1120-9.
  11. Cystic Fibrosis in Australia 2014 17<sup>th</sup> Annual Report Australian Cistic Fibrosis Data Registry. Australia;2014. Available from [www.cysticfibrosis.org.au/cfa](http://www.cysticfibrosis.org.au/cfa).
  12. Marshall BC, Elbert A, Petren K, Rizvi S, Fink A, Ostrenga J, et al. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2014 Annual Data Report. *Cyst Fibros Found.* 2015;1–92.
  13. Sagel SD, Gibson RL, Emerson J, McNamara S, Burns JL, Wagener JS, et al. Impact of Pseudomonas and Staphylococcus Infection on Inflammation and Clinical Status in Young Children with Cystic Fibrosis. *J Pediatr [Internet].* 2009;154(2):183–8.
-

Available from:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002234760800677X%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002234760800677X>

14. Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M, Lechtzin N, Boyle MP. Persistent Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Rate of FEV<sub>1</sub> Decline in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2008 Oct 15 [cited 2016 Nov 18];178(8):814–21. Available from: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200802-327OC>
  15. Vanderhelst E, De Meirleir L, Verbanck S, Piérard D, Vincken W, Malfroot A. Prevalence and impact on FEV1 decline of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization in patients with cystic fibrosis. A single-center, case control study of 165 patients. *J Cyst Fibros* [Internet]. 2012;11(1):2–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1569199311001391>.
  16. Dalcin PTR, Ziegler B, Viana VP, Agostini GL, Pinhatti MM, Belloli LFS, et al. Fibrose Cística: Análise da Coorte de 10 Anos de um Programa para Adultos. *Clin Biomed Res*. 2011;31(2):9.
  17. Reiter KC, Machado AB, Freitas AL, Barth AL. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III in cystic fibrosis patients in southern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010 Jul-Aug;43(4):377-81.
  18. Cosgrove S, Sakoulas G, Perencevich E, Schwaber M, Karchmer A, Carmeli Y. Comparison of Mortality Associated with Methicillin Resistant and Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2003;36(1):53–9. Available from: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/345476>
  19. Elizur A, Orscheln RC, Ferkol TW, Atkinson JJ, Dunne WM, Buller RS, et al. Pantone-Valentine Leukocidin-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Lung Infection in Patients With Cystic Fibrosis. *Chest* [Internet]. 2007 Jun [cited 2017 Mar 7];131(6):1718–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17400676>.
  20. Dasenbrook EC, Konstan MW, Lechtzin N, Boyle MP. Association Between Respiratory Tract Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Survival in Cystic Fibrosis. *Hospitals (Lond)*. 2010;303(23):2386–92.
  21. Hector A, Kirn T, Ralhan A, Graepler-Mainka U, Berenbrinker S, Riethmueller J, et al. Microbial colonization and lung function in adolescents with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2016;15(3):340–9.
  22. Miller MR. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* [Internet]. 2005 Aug 1 [cited 2017 Mar 5];26(2):319–38. Available from: <http://erj.ersjournals.com/cgi/doi/10.1183/09031936.05.00034805>
  23. Shwachman H. Long-Term Study of One Hundred Five Patients with Cystic Fibrosis. *AMA J Dis Child* [Internet]. 1958 Jul 1 [cited 2016 Nov 17];96(1):6. Available from: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpedi.1958.02060060008002>
-

24. Onis M de, Garza C, Onyango AW, Borghi E. Comparison of the WHO child growth standards and the CDC 2000 growth charts. *J Nutr* [Internet]. 2007;137(1):144–8. Available from: <http://jn.nutrition.org/content/137/1/144.full.pdf>
  25. Quanjer PH, Cole TJ, Hall GL, Culver BH. Multi-ethnic reference values for spirometry for thee 3-95 years age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2013;40(6):1324–43.
  26. Becker LT, Russek-Cohen E, Fink R. Stature as a prognostic factor in cystic fibrosis survival. *J Am Diet Assoc*. 2001 Apr;101(4):438–42.
  27. MacKenzie T, Gifford AH, Sabadosa KA, Quinton HB, Knapp EA, Goss CH, et al. Longevity of patients with cystic fibrosis in 2000 to 2010 and beyond: Survival analysis of the Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. *Ann Intern Med*. 2014;161(4):233–41.
  28. Cystic Fibrosis Trust. UK Cystic Fibrosis Registry Annual data report 2013. 2014;(July):24–5. Available from: <http://www.cysticfibrosis.org.uk/media/598466/annual-data-report-2013-jul14.pdf>
  29. GBECF. Registro Brasileiro Fibrose Cística; 2014. Aavailable from: [www.gbef.org.br](http://www.gbef.org.br).
  30. Faint NR, Staton JM, Stick SM, Foster JM, Schultz A. Investigating self-efficacy, disease knowledge and adherence to treatment in adolescents with cystic fibrosis. *J Paediatr Child Health* [Internet]. 2017;1–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jpc.13458>
  31. Vandenbranden SL, McMullen A, Schechter MS, Pasta DJ, Michaelis RL, Konstan MW, et al. Lung function decline from adolescence to young adulthood in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(2):135–43.
  32. Lo DKH, Hurley MN, Muhlebach MS, Smyth AR. REVIEW: Interventions for the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in people with cystic fibrosis. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. 2013;2(2):CD009650. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23450608>
  33. Fusco NM, Toussaint KA, Prescott WA. Antibiotic Management of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*???Associated Acute Pulmonary Exacerbations in Cystic Fibrosis. *Ann Pharmacother*. 2015;49(4):458–68.
  34. Dennersten U, Lannefors L, Höglund P, Hellberg K, Johansson H, Lagerkvist A-L, et al. Lung function in the aging Swedish cystic fibrosis population. *Respir Med*. 2009;103:1076–82.
-

## APÊNDICE 2 – ARTIGO ORIGINAL 2

**Impacto da imunização com vacina tríplice bacterina acelular (dTpa) em gestantes sobre a incidência da coqueluche no Brasil****RESUMO**

**Introdução:** A coqueluche continua sendo relevante causa de morbimortalidade, principalmente em lactentes pequenos, apesar de ser uma doença imunoprevenível. Na última década (especialmente após 2010) houve o ressurgimento da doença no mundo e também no Brasil. O objetivo deste estudo foi relatar as tendências nacionais da incidência da coqueluche em crianças menores de 1 ano no Brasil e o impacto da introdução da vacina dTpa em gestantes em menores de 1 mês de vida.

**Métodos:** Os dados foram obtidos através do número de casos confirmados constantes no DATA-SUS e Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAM). Foi utilizada base de dados do Ministério da Saúde do Brasil, registrados de 2007 a 2015. Para os cálculos de incidência, utilizaram-se os dados populacionais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Os dados da vacinação das gestantes foram acessados no [link pni.datasus.gov.br](http://link.pni.datasus.gov.br), SI-PNI-Sistema de Informações do PNI.

**Resultados:** Entre janeiro de 2007 e dezembro de 2015 foram confirmados 21.286 (78%) em crianças abaixo de 4 anos e 17.090 (62,6%) em < 1 ano. Em 2014 foram internadas 4.333 crianças < 1mês apresentando queda de 49,5% no ano seguinte. No período estudado ocorreram 413 óbitos em crianças abaixo de 1 ano. Comparando o período 2007-2010 e 2011-2014 foi observado aumento 591,2% no número de casos por ano. O maior número de internações em < 1mês de vida ocorreu em 2014 havendo queda de 49,5% em 2015. Em pacientes menores de 1 mês de vida a incidência variou de 6,23/100.00 hab/ano em 2007 a 96,92/100.000 hab/ano em 2014, caindo para 22,24 em 2015. Neste grupo, no período de 2010-11, houve aumento de 377% no número de casos e queda de 68% no período 2014-15. A redução coincide com a vacinação das gestantes a partir de meados de 2013.

**Conclusões:** No Brasil a situação epidemiológica se modificou a partir de 2011, com aumento significativo da incidência em lactentes < 1 ano. A vacinação da gestante com dTpa a partir de 2013 coincide com a redução no número de casos de coqueluche nos menores de 1 mês de vida em 2015. A imunização da gestante pode proteger os lactentes através da transferência passiva de anticorpos e se mostra promissora na prevenção da doença em lactentes que ainda não iniciaram o esquema vacinal para *pertussis*.

**Palavras-chave:** *Bordetella pertussis*, crianças, vacina contra coqueluche, gestação.

---



---

**ABSTRACT**

**Introduction:** Pertussis continues to be a relevant cause of morbidity and mortality, especially in young infants, despite being an immunopreventable disease. In the last decade (especially after 2010) there has been a resurgence of the disease in the world and also in Brazil. The objective of this study was to report the national trends in the incidence of pertussis in children in Brazil and the impact of the introduction of the dTpa vaccine in pregnant women.

**Methods:** The data were obtained through the number of confirmed cases in the DATA-SUS and Notification of Injury Information System (SINAM). A database of the Ministry of Health of Brazil was used, registered from 2007 to 2015. For the calculation of incidence, the population data of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) was used. The data on the vaccination of pregnant women were accessed at [pni.datasus.gov.br](http://pni.datasus.gov.br), SI-PNI-PNI Information System.

**Results:** Between January 2007 and December 2015, 27,276 cases were confirmed, 21,286 (78%) in children younger than four years old. In patients less than one month of age the incidence varied from 6.23 / 100.00 hab./year in 2007 to 96.92 / 100.000 hab./year in 2014, dropping to 22.24 in 2015. The reduction coincides with vaccination Of pregnant women from mid-2013.

**Conclusions:** In Brazil, the epidemiological situation has changed since 2011, with a significant increase in the incidence of infants <1 year. Vaccination of the pregnant woman with dTpa can protect infants through the passive transfer of antibodies and is shown to be promising in preventing the disease in infants who have not yet started the pertussis vaccine regimen.

**Key-words:** *Bordetella pertussis*, children, vaccine against pertussis, gestation.

**INTRODUÇÃO**

Considerando as enfermidades imunopreveníveis, a coqueluche está entre as doenças bacterianas de alta incidência, em vários países, incluindo o Brasil<sup>(1)</sup>. Em todo o mundo a Organização Mundial da Saúde estima a ocorrência de 50 milhões de casos, com 300 mil óbitos por ano<sup>(2)</sup>.

Por definição a doença resulta da infecção por *Bordetella pertussis*, na maioria das vezes causando tosse, embora bebês pequenos possam apresentar apenas episódios de apneia e cianose<sup>(3)</sup>. Acomete todos os grupos etários, sendo mais prevalente em menores de 1 ano de idade e mais severa em lactentes menores de seis meses<sup>(4)</sup>.

Os componentes proteicos da *Bordetella pertussis*, conhecidos como fatores de virulência, são categorizados em toxinas e adesinas que, junto a outras moléculas, interagem com as células do hospedeiro alterando suas funções. O mecanismo exato pelo qual estes fatores resultam em doença permanece parcialmente esclarecido<sup>(3)</sup>.

---

Na era pré-vacinal, a incidência da doença nos Estados Unidos da América chegava a 150 casos por 100 mil habitantes/ano e, após a introdução da vacina, que ocorreu nos anos de 1940, houve queda gradativa até 1/100.000/ano na década de 90<sup>(5)</sup>. Durante a epidemia de 2010-2012, a incidência da *pertussis* na Califórnia, EUA, chegou a 138,4/100.000 habitantes/ano<sup>(6)</sup>. Apesar da ampla cobertura vacinal, várias regiões do mundo vêm observando seu ressurgimento na última década. Em 2014 os EUA notificaram 28.660 casos (7).

A substituição da vacina de células inteiras por vacinas acelulares tem sido cogitada como possível causa, devido à resposta imune de menor duração<sup>(19)</sup>. Outras possíveis causas do reaparecimento da doença relacionadas à vacina incluem a curta duração da imunidade adaptativa após a vacina, o mesmo ocorrendo após a infecção natural, o que leva à doença entre adolescentes e adultos que podem ser fonte de infecção para a população pediátrica<sup>(21)</sup>.

O reconhecimento da doença por meio do desenvolvimento de critérios de definição diagnóstica em todas as faixas etárias, bem como melhorias na notificação também contribuem com o aumento do número de casos notificados, embora não se possa justificar o aumento ocorrido após 2010 somente por uma mudança de critérios<sup>(8)</sup>.

O Programa Nacional de Imunizações disponibiliza a vacina de células inteiras associada à difteria e tétano (tríplice bacteriana) desde a sua criação em 1973, o que levou à queda de 40 mil casos anuais para 15 mil casos notificados em 1990, com incidência de 10,6/100.000 habitantes/ano, com a cobertura vacinal atingindo 70% da população-alvo. Quando a cobertura vacinal se aproximou de 95-100% nos anos de 1998-2000, a incidência diminuiu para 0,9/100.000 habitantes/ano, chegando a 0,32/100.000 habitantes/ano em 2010, com apenas 503 casos notificados<sup>(9)</sup>.

No Brasil a situação epidemiológica vem se modificando gradativamente desde 2011, quando houve notificação de 2.245 casos, apesar da manutenção de altas coberturas vacinais<sup>(10)</sup>.

As crianças menores de 1 ano de idade, especialmente abaixo de seis meses de vida, são as mais afetadas. Nessa faixa etária, a maioria dos lactentes ainda não recebeu o esquema vacinal completo. A quantidade de anticorpos maternos, quando presentes, pode não ser suficiente para proteger o recém-nascido da doença por *pertussis*, pois a principal fonte de infecção são os contatos domiciliares<sup>(11)</sup>.

As gestantes são geralmente vacinadas na infância e possuem baixas concentrações de anticorpos contra *pertussis*, insuficientes para a proteção do recém-nascido quando ultrapassam a placenta. A vacinação com dTpa em gestantes estimula a produção de anticorpos contra a

---

coqueluche, que potencialmente ultrapassam a placenta levando à proteção direta do lactente jovem<sup>(12-13)</sup>.

A vacina adsorvida de difteria, tétano e coqueluche (*pertussis* acelular) foi incorporada em novembro de 2013 ao Calendário Nacional de Vacinação da gestante, com a meta de diminuir a incidência e a mortalidade por coqueluche nos recém-nascidos e lactentes<sup>(14)</sup>.

O objetivo do presente estudo é relatar as tendências nacionais da taxa de incidência da coqueluche em crianças no Brasil e o impacto da introdução da vacina em gestantes a partir de setembro de 2013.

## METODOLOGIA

A coqueluche é uma doença de notificação obrigatória no Brasil e todos os casos suspeitos atendidos no Sistema Único de Saúde devem ser reportados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde. As informações do período 2007 a 2015 estão incluídas na base de dados do DATASUS e foram acessadas em julho de 2016. Os dados de 2013, 2014 e 2015 foram atualizados em outubro de 2015 e estão sujeitos a revisão pelo Ministério da Saúde.

A identificação dos casos confirmados é baseada em critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. Os critérios clínicos incluem: tosse, tosse paroxística, presença de “guincho”, cianose, vômito, apneia, temperatura  $< 38^{\circ}\text{C}$  ou  $> 38^{\circ}\text{C}$ . Como critério clínico podem-se considerar, além dos sinais e sintomas, contagem de leucócitos  $> 20.000/\text{mm}^3$  ou linfócitos  $> 10.000/\text{mm}^3$ . O critério epidemiológico envolve o contato com caso confirmado por teste laboratorial. Os critérios laboratoriais incluem cultura da *Bordetella pertussis* ou reação de cadeia de polimerase (PCR) positiva em secreção nasofaríngea.

Os dados dos casos notificados de coqueluche foram obtidos através dos *links Informações de Saúde (TABNET), Epidemiológicas e Morbidade, Doenças de Notificação, Coqueluche*, casos confirmados por faixa etária e ano do primeiro sintoma<sup>15</sup>.

Com relação aos dados de internação, foram utilizados os *links Informações de Saúde (TABNET), Epidemiológicas e Morbidade, Morbidade Hospitalar, Lista Morbidade CID-10 (Coqueluche – A37.0)*, do período de 2007-2015, com os grupos etários de  $< 1$  ano e de 1 a 4 anos de ambos os sexos<sup>(15)</sup>.

---

Para o cálculo de incidência, foi utilizada a fórmula:  $N^{\circ}$  Total de casos confirmados da doença/ $N^{\circ}$  populacional (por ano e local [Brasil-IBGE]) x 100.000 habitantes<sup>(16)</sup>. Para acessar dados relacionados à vacinação das gestantes foi consultado o Sistema de Informações do Programa Nacional de Imunizações (SI-PNI)<sup>(17)</sup>.

Todos os dados foram revisados pelo autor e por mais dois pesquisadores independentemente, para garantir a qualidade na obtenção dos dados. Este estudo não contém dados pessoais ou individuais, portanto, foi considerado isento de avaliação pela Comissão de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

## **RESULTADOS**

Entre janeiro de 2007 e dezembro de 2015 houve 27.276 casos confirmados por critérios clínicos e epidemiológicos. Aproximadamente 10.135 foram confirmados por critérios laboratoriais.

A distribuição anual dos casos demonstra um aumento significativo a partir de 2011, com 2.245 casos, 5.436 casos e 6.447 em 2012 e 2013, respectivamente, atingindo o maior número em 2014, com 8.420 casos confirmados de coqueluche. O número de casos em 2015 sofreu um declínio de 83,5% em relação ao ano anterior.

A faixa etária de maior prevalência encontra-se nas duas primeiras décadas de vida, embora a terceira e quarta décadas tenham apresentado um aumento no número de casos, chegando a 581 notificados em 2014. O aumento do número de casos entre 40 e 59 anos acompanhou o aumento global de notificados nos anos de 2011 a 2014, demonstrando tendência de queda no ano de 2015. A distribuição anual de casos por faixa etária se encontra no Quadro 1.

No período do estudo (2007 a 2015) foram notificados 21.286 (78%) em pacientes até os 4 anos de idade. Com relação às internações, o maior número ocorreu na faixa etária < 1 ano, atingindo 4.333 pacientes em 2014, enquanto que no ano de 2015 foram registradas 2.184 hospitalizações por coqueluche, representando uma queda de 49,5% (Figura 2). No período do estudo, em menores de 4 anos ocorreram 417 óbitos (413 em crianças abaixo de 1 ano), número que variou de 12 em 2007, a 120 em 2014.

No período de 2007-2010 a média anual em menores de 4 anos foi de 731,5 casos e no período 2011-2014 a média foi de 4.325 casos/ano, representando um aumento de 591,2%. Nos

mesmos períodos, a média do número de casos por ano em menores de 1 mês foi de 216,5 e 1893,2 respectivamente, com incidência variando de 6,23 em 2007 a 99,30/100.000 habitantes em 2014, caindo para 32,25 em 2015.

Em pacientes < 1 mês de idade no período 2009/10, houve diminuição de 67% dos casos com relação aos dois anos anteriores. Entre 2010 e 2011 foi observado um incremento de 377% no número de casos. Nos períodos que se seguiram, a variação positiva continuou até 2013/2014. O período de 2014-2015 demonstrou uma diminuição de 68% com relação a 2013-2014 (Figura 1).

A partir de 2013 o Programa Nacional de Imunizações disponibilizou a vacina dTPa para gestantes, atingindo nesse ano 81.477 pacientes. Em 2014 foram vacinadas 252.068, coincidindo com a queda na incidência da coqueluche em menores de 1 mês em 2015 para 22,25/100.000 habitantes. No ano de 2015 o programa atingiu 1.170.326 gestantes (Figura 3).

## **DISCUSSÃO**

Nosso estudo demonstrou que a partir de 2011 houve um aumento significativo no número de casos notificados, principalmente em crianças abaixo de um ano de idade, com grande número de casos em bebês abaixo de um mês de vida. Constatou-se também que a imunização das gestantes coincide com a diminuição do número de casos na faixa etária pediátrica, especialmente em menores de um mês de idade ainda não vacinados, evidenciando queda também no número de casos internados.

A epidemiologia da coqueluche tem se modificado drasticamente no Brasil nos últimos quatro anos, demonstrando um claro aumento no número de casos notificados, bem como um aumento nas taxas de morbimortalidade<sup>(8)</sup>. Após a introdução da vacina no país, que ocorreu em 1983, a incidência da doença caiu e após manteve-se relativamente estável até 2010<sup>(15)</sup>. As notificações foram realizadas seguindo os critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde, constatando-se um elevado número de notificações baseadas no diagnóstico laboratorial, comprovando um real aumento da doença no Brasil apesar do uso de vacinas inteiras e da ampla cobertura vacinal<sup>(8)</sup>. O Ministério da Saúde do Brasil introduziu a vacina dTpa para as gestantes em 2013, como medida de enfrentamento da epidemia de coqueluche instalada a partir de 2011 no país<sup>(14)</sup>.

---

Em 2010-2012 os EUA vivenciaram uma epidemia sem precedentes na era vacinal, atingindo 48.277 casos, 138,4/100.000 habitantes. A maior incidência também ocorreu nos menores de 1 ano cujo número de doses da vacina acelular para *pertussis* ficou abaixo de cinco. Curiosamente houve também aumento em outras faixas etárias que haviam sido vacinadas com mais de cinco doses<sup>(6)</sup>.

Globalmente muitos países estão relatando um aumento nos casos de coqueluche, incluindo aqueles países que utilizam vacinas inteiras em seus calendários de imunizações<sup>(6)</sup>.

A Itália, ao contrário, não observou aumento no número de casos até 2013, o que foi atribuído, em parte, ao baixo reconhecimento da doença e sua notificação<sup>(18)</sup>.

O aumento da incidência no Brasil foi demonstrado em publicações de 2014 e 2015, quando também foram utilizados dados do DATASUS dos períodos de 2007-2011 e 2007-2014, respectivamente<sup>(9,11)</sup>. Dentre os casos confirmados, 23,1% ocorreram em crianças com menos de três doses da vacina inteira para *pertussis*. Das 27 unidades da Federação Brasileira, 18 não atingiram 95% de cobertura com vacinas inteiras para *pertussis* em 2012<sup>(9)</sup>.

O reconhecimento da doença e sua obrigatoriedade de notificação no Brasil podem ter contribuído parcialmente para um número maior de casos.

A substituição da vacina de células inteiras por vacinas acelulares tem sido cogitada como possível causa, devido à resposta imune de menor duração<sup>(19)</sup>. Este fato pode ser contestado, já que a doença reapareceu também em países que utilizavam vacinas de células inteiras, como é o caso da Argentina<sup>(20)</sup>.

Outras possíveis causas do reaparecimento da doença relacionadas à vacina incluem a curta duração da imunidade adaptativa após a vacina, o mesmo ocorrendo após a infecção natural, o que leva à doença entre adolescentes e adultos que podem ser fonte de infecção para a população pediátrica<sup>(21)</sup>.

Estudo realizado no Paraná constatou o adoecimento por coqueluche em 5% das crianças que haviam recebido cinco doses da vacina. A análise molecular das cepas identificou dois grupos e oito clones, um deles detectado pela primeira vez em 2011 e outros dois que circularam apenas após 2009, e que talvez sejam diferentes da cepa utilizada na vacina.<sup>21</sup> Existem evidências moleculares de que cepas circulantes de *B. pertussis* modificaram seus fatores de virulência, particularmente a toxina *pertussis* e *pertactina*<sup>(10)</sup>.

---

A coqueluche é particularmente grave em menores que três meses de vida e o ressurgimento da doença na última década levou à adoção de medidas que pudessem diminuir a morbimortalidade nesta população. Além da vacinação dos contactantes<sup>(23)</sup>, a imunização da gestante se mostrou promissora pela possível transferência de anticorpos maternos para o RN<sup>13</sup>. A possibilidade de proteção através da vacinação da mãe foi investigada nos anos 1930 e 1940, mas apenas recentemente estudos em animais e humanos passaram a ser conduzidos. A vacina dTpa recebida pela gestante estimula o desenvolvimento de anticorpos antipertussis capazes de ultrapassar a barreira placentária, fornecendo proteção tanto ao recém-nascido quanto para a mãe no período puerperal, diminuindo o risco da infecção e da transmissão materna<sup>(24)</sup>.

Em 2011 o Comitê de imunizações do CDC recomendou uso de dTpa para gestantes não vacinadas e em 2012 a recomendação foi estendida para todas as gestantes, independentemente do estado vacinal, e para cada gestação. O uso da vacina em gestações diferentes não demonstrou maiores efeitos adversos, se comparado à vacinação em não gestantes. Foi recomendado seu uso entre 26 e 36 semanas de gestação<sup>(24)</sup>.

Nessa mesma época (outubro de 2012) a Inglaterra implementou o programa de vacinação das gestantes para *pertussis* e, a partir de casos confirmados por critérios laboratoriais e *status* vacinal materno, pôde-se analisar a eficácia da vacina. O estudo incluiu 26.684 mulheres que deram à luz a RN vivos de outubro de 2012 a setembro de 2013. Os primeiros nove meses de 2013 demonstraram uma queda de 78% no número de casos confirmados e de 68% nas hospitalizações por coqueluche<sup>(13)</sup>.

A Portaria nº 47, de 10 de setembro de 2013, Relatório nº 46, da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias do SUS<sup>(14)</sup>, incorporou a vacina adsorvida difteria, tétano e *pertussis* (acelular) – dTpa – para vacinação de gestantes no Sistema Único de Saúde do Brasil a partir da 27ª até a 36ª semanas de gestação, preferencialmente, podendo ser administrada até vinte dias antes da data provável do parto.

Nosso estudo demonstrou através de dados constantes no DATASUS, do Ministério da Saúde do Brasil, que o uso da vacina nos anos de 2013 e 2014 pode ter contribuído com a diminuição da morbimortalidade por coqueluche nos lactentes, especialmente nos menores de um mês.

O presente estudo demonstra limitações relacionadas às notificações que dependem do diagnóstico correto feito pelo médico assistente e da notificação adequada realizada pelos serviços de vigilância epidemiológica.

---

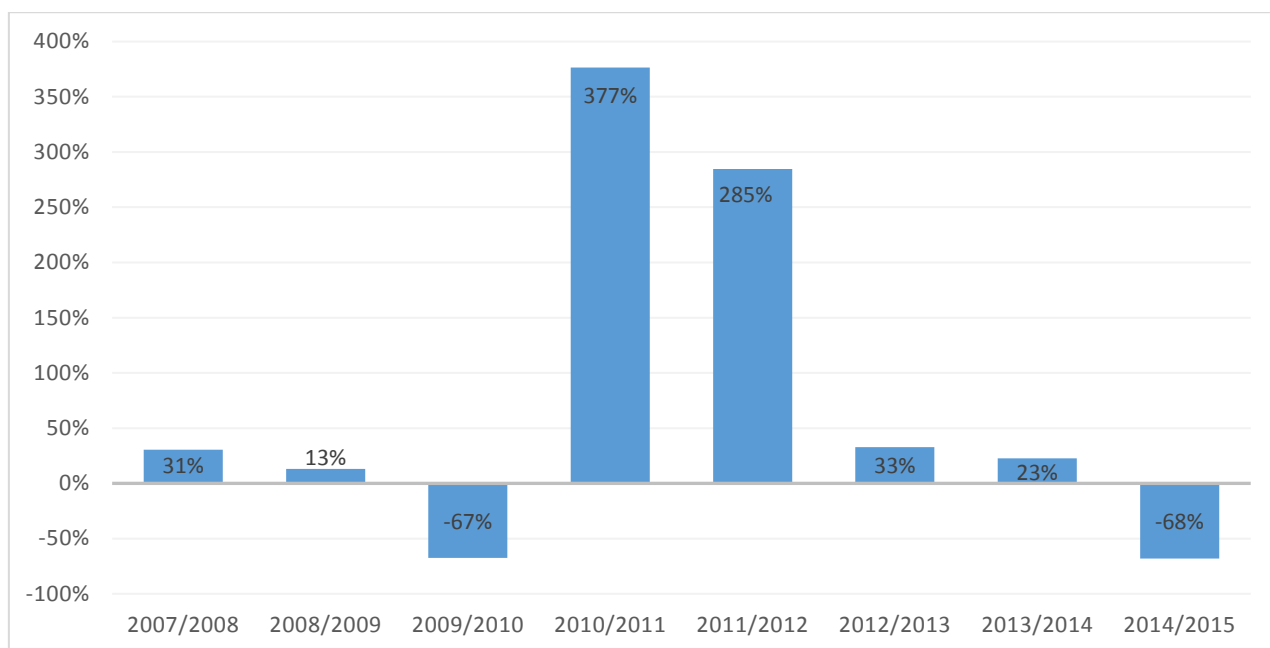
Estudos envolvendo a comparação da dosagem de anticorpos entre grupos de gestantes vacinadas e não vacinadas e seus recém-nascidos são necessários para comprovação das vantagens da vacinação em gestantes. A divulgação dos dados existentes pode contribuir com a adesão dos serviços de pré-natal com a intenção de erradicar a coqueluche em crianças ainda não vacinadas.



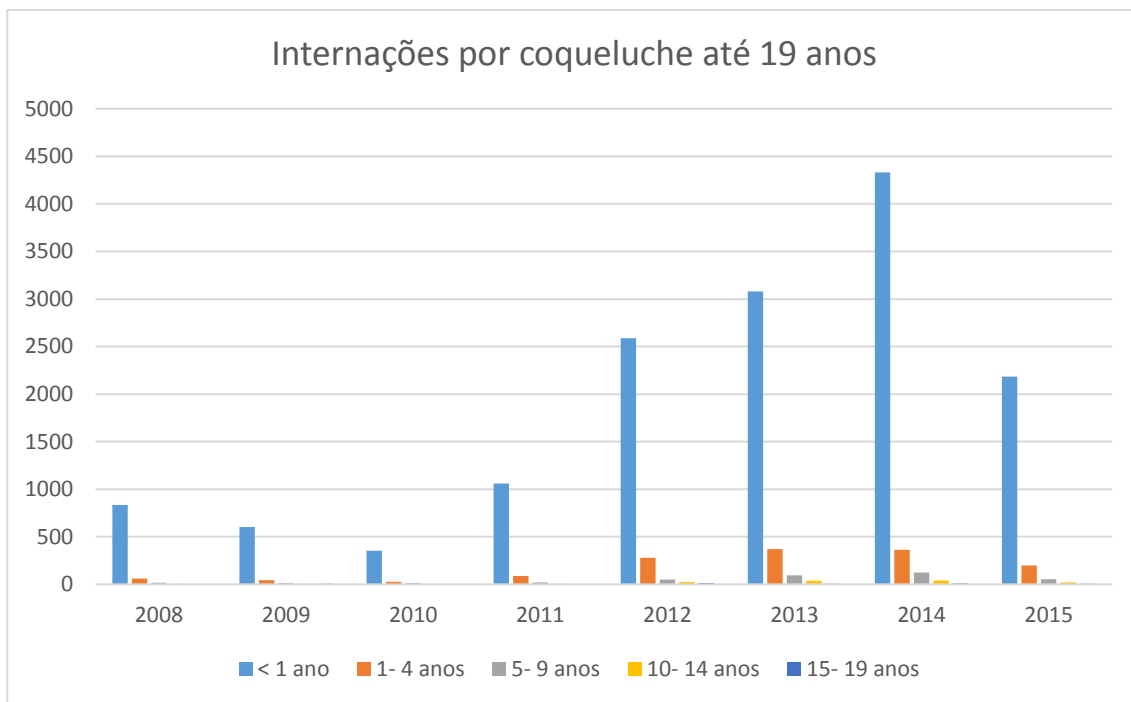
**Quadro 1-** Casos confirmados de coqueluche de 2007 a 2015

Idade	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
<1 ano	638	872	596	394	1679	3416	3685	4966	844	17090
1-4 anos	95	137	145	49	207	925	1238	1184	216	4196
5-9 anos	43	55	73	22	80	395	594	833	132	2227
10-14 anos	40	34	43	14	70	237	247	397	50	1132
15-19 anos	15	19	11	2	42	91	93	123	15	411
20-39 anos	22	38	33	17	114	275	422	581	78	1580
40-59 anos	13	12	10	4	44	87	141	205	32	548
60-64 anos	0	0	0	0	5	4	12	17	3	41
65-69 anos	1	2	0	0	3	5	9	7	2	29
70-79 anos	0	2	0	0	1	0	4	3	3	13
> 80 anos	0	0	0	1	0	1	2	4	1	9
<b>Total</b>	<b>867</b>	<b>1171</b>	<b>911</b>	<b>503</b>	<b>2245</b>	<b>5436</b>	<b>6447</b>	<b>8320</b>	<b>1376</b>	<b>27276</b>

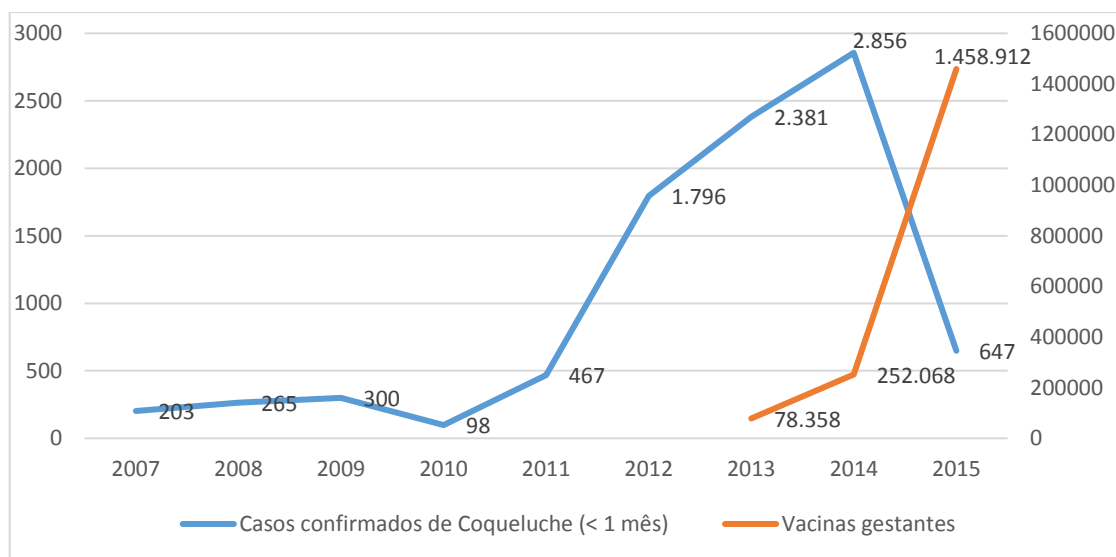
**Figura 1-** Variação da incidência de coqueluche em crianças com menos de 1 mês de vida



**Figura 2 - Internações por coqueluche entre 2008 e 2015**



**Figura 3** - Casos confirmados em crianças com coqueluche com menos de 1 mês de idade e vacinação das gestantes



**REFERÊNCIAS**

1. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Summary of notifiable diseases – United States, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;57:1-94.
  2. World Health Organization. WHO-recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases; 2003.
  3. Hewlett EL, Burns DL, Cotter PA, Harvill ET, Merkel TJ, Quinn PC, Stibitz ES. Pertussis Pathogenesis: what we know and what we don't know. *J Infect Dis.* 2014;209:982-5.
  4. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis - United States, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005;54:1283-6.
  5. Pertussis: Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. The Pink Book: Course Textbook. 13th edition. Public Health Foundation: Learning Resource Center; 2015. 512 p.
  6. Clark TA. Changing Pertussis Epidemiology: Everything Old is New Again. *J Infect Dis.* 2014;209:978-81.
  7. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Provisional 2014. Rep Notifiable Diseases. 2015; Jan 9.
  8. Chiappini E, Stival A, Galli L, Martino M. Pertussis re-emergence in the post-vaccination era. *BMC Infect Dis.* 2013;13:51.
  9. Guimarães LM, Carneiro ELNC, Carvalho-Costa FA. Increasing incidence of pertussis in Brazil: a retrospective study using surveillance data. *BMC Infect Dis.* 2015;15:442-54.
  10. Ministério da Saúde (BR). Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN; 2016 [cited 2016 Apr 10]. Available from: <http://sinan.saude.gov.br>.
  11. Willemann MC, Goes FCS, Araújo ACM, Domingues CMAS. Adoecimento por coqueluche e número de doses administradas de vacinas Pertussis: estudo de caso controle. *Epidemiol Serv Saúde.* 2014;23(2):207-14.
  12. Loch C, Mielcarek N. New pertussis vaccination approaches: en route to protect newborns? *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012 Nov;66(2):121-33.
  13. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, Donegan K, Fry NK, Miller E, Ramsay M. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet.* 2014;384:1521-28.
  14. Ministério da Saúde (BR). Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias do SUS (CONITEC). Relatório nº46, Portaria nº47, de 10 de setembro de 2013; 2013 [cited 2016 Aug 17]. Available from: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sctie/2013>.
-

15. Ministério da Saúde (BR). Tabnet DATASUS. Indicadores básicos para a saúde no Brasil; 2013 [cited 2016 Aug 17]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br>.
  16. Ministério da Saúde (BR). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); 2016 [cited 2017 Jan 17]. Available from: <http://www.ibge.gov.br>.
  17. Ministério da Saúde (BR). Programa Nacional de Imunização; 2016 [cited 2017 Jan 17]. Available from: [pni.datasus.gov.br](http://pni.datasus.gov.br).
  18. Gonfiantini MV, Carloni E, Gesualdo F, Pandolfi E, Agricola E, Rizzuto E, Iannazzo S, Ciofi Degli Atti ML, Villani A, Tozzi AE. Epidemiology of pertussis in Italy: Disease trends over the last century. *Euro Surveill*. 2014;19(40):pii-20921.
  19. Witt MA, Arias L, Katz PH, Truong ET, Witt DJ. Reduced Risk of Pertussis Among Persons Ever Vaccinated With Whole Cell Pertussis Vaccine Compared to Recipients of Acellular Pertussis Vaccines in a Large US Cohort. *Clin Infect Dis*. 2013;56(9):1248-54.
  20. Hozbor D, Mooi F, Flores D, Weltman G, Bottero D, Fossati S, Lara C, Gaillard ME, Pianciola L, Zurita E, Fioriti A, Archuby D, Galas M, Binsztein N, Regueira M, Castuma C, Fingerhann M, Graieb A. Pertussis epidemiology in Argentina: trends over 2004-2007. *J Infect Dis*. 2009; 59:225-31.
  21. Burns DL, Meade BD, Messonnier ME. Pertussis Resurgence: Perspectives From the Working Group Meeting on Pertussis on the Causes, Possible Paths Forward, and Gaps in Our Knowledge. *J Infect Dis*. 2014;209(S1):S32-5.
  22. Torres RSLA, Santos TZ, Torres RAA, Pereira VVG, Fávero LAF, Filho ORM, Penkal ML, Araujo LS. Resurgence of pertussis at the age of vaccination: clinical, epidemiological, and molecular aspects. *J Pediatr*. 2015;91(4):333-8.
  23. DeMaria Jr A, Lett SM. Vaccinate the Village. *CI Infectious Disease*. 2010;50(10):1346-1348.
  24. Center for Disease Control and Prevention. Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women—Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62:131-5.
-

**ANEXO**

ANEXO - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.

**Título da Pesquisa:** Caracterização Clínica, Laboratorial e Funcional de Pacientes Pediátricos Portadores de Fibrose Cística no Sul do Brasil

**Pesquisador Responsável:** Leonardo Araujo Pinto

**CAAE:** 49692115.7.0000.5336

**Submetido em:** 23/09/2015

**Instituição Proponente:** UNIÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E ASSISTÊNCIA

**Situação da Versão do Projeto:** Aprovado

**Localização atual da Versão do Projeto:** Pesquisador Responsável

---