



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

CURSO DE MEDICINA

LIZE EGLE SOUZA GONZAGA

**COMPARAÇÃO ENTRE AS ESTRATÉGIAS IRT/IRT E IRT/PAP PARA A
TRIAGEM NEONATAL PARA FIBROSE CÍSTICA: ESTUDO DE REVISÃO
SISTEMÁTICA**

SALVADOR

2024

Lize Egle Souza Gonzaga

**COMPARAÇÃO ENTRE AS ESTRATÉGIAS IRT/IRT E IRT/PAP PARA A
TRIAGEM NEONATAL PARA FIBROSE CÍSTICA: ESTUDO DE REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso,
apresentado ao curso de graduação em
Medicina da Escola Bahiana de Medicina e
Saúde Pública, para aprovação parcial no 4º
ano do curso de Medicina.

Orientadora: Dra. Carolina de Godoy Almeida

Coorientador: Dr. Ney Boa Sorte

Salvador

2024

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha profunda gratidão a Deus, que me concedeu a perseverança e a força necessárias para concluir esta etapa da minha vida, e aos meus pais, Ailton e Synara, por todo amor que sempre fizeram questão de demonstrar, mesmo nos momentos mais desafiadores.

Agradeço imensamente à minha família, cujo apoio incondicional foi o alicerce de minha jornada. Aos irmãos e sobrinhos, Allan, Thatiana, Lara, Lucas, Miguel e Arthur, obrigado por cada palavra de incentivo e apoio e por acreditarem no meu potencial. Agradeço também a minha cunhada, Carine, sua presença e incentivo foram um conforto e uma força motriz em minha jornada.

Aos meus amigos, Marcella, Laura, Vanessa, Maria Isabel e Pietro, por cada gesto de incentivo e palavra de apoio que foram muito valiosos para essa empreitada. Não posso deixar de mencionar minha querida afilhada, Amélie, cujo sorriso me motivaram a seguir em frente nos momentos de cansaço.

Um agradecimento especial a minha orientadora, Prof. Dra. Carolina Godoy e o meu coorientador Ney Boa Sorte, cuja paciência, sabedoria e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento e aprimoramento deste trabalho.

Agradeço também ao grupo de pesquisa GRUDES, pelo ambiente colaborativo e extremamente enriquecedor. A cada membro do grupo, minha gratidão por compartilharem seus conhecimentos e experiências. Um agradecimento especial a Carol Costa, Pedro Massi e Marina que trabalharam ativamente comigo nesse processo.

As minhas amigas e colegas de curso, Jamile, Thayse, Mariana Gondim e Mariana Andrade, pelo suporte nos momentos de estudo e descontração. Vocês tornaram essa jornada muito mais leve e prazerosa. Cada conversa, cada risada e cada momento compartilhado foram imprescindíveis para que eu chegasse até aqui.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte deste processo e a Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP). Estou imensamente grata a todos e espero poder retribuir e compartilhar tudo o que aprendi.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A fibrose cística (FC) é uma doença hereditária autossômica recessiva com uma incidência estimada no Brasil entre 1:7500 e 1:15.000. O Programa de Triagem Neonatal (PTN) utiliza o protocolo IRT/IRT, no entanto esse método tem sido questionado, principalmente em populações muito miscigenadas. Dessa forma, o protocolo IRT/PAP pode ser uma alternativa com o melhor custo e efetividade do que o protocolo IRT/DNA. **OBJETIVO:** Comparar a acurácia dos protocolos IRT/IRT e IRT/PAP na triagem neonatal (TN) para FC. **METODOLOGIA:** Revisão sistemática, registrada no sistema PROSPERO pelo número CRD42023395880, conduzida em 2023, com pergunta PIRO (População, teste Index, teste Comparador, desfecho) “Em recém-nascidos (P), a estratégia de triagem com ITR/PAP (I), comparada a estratégia IRT/IRT (C) tem acurácia similar (O)? Para tal foram utilizadas as palavras-chaves “Cystic Fibrosis”, “IRT”, “PAP”, Neonatal Screening”, em sintaxes adaptadas para as bases de dados: *Embase, PubMed, Cochrane, Lilacs e Bireme*. Nos artigos encontrados foi feita a remoção de duplicados e seleção baseado na análise de critérios específicos. Os artigos selecionados tiveram os dados extraído e o risco de viés analisado. Os dados encontrados foram avaliados qualitativamente, por método descritivo. **RESULTADOS:** Foram encontrados 209 artigos, sendo 65 duplicados e 118 não selecionados por não se enquadrarem nos critérios, após a leitura completa de 13 artigos, apenas um artigo possuía os dois protocolos, além de ser o único não europeu. A maioria dos artigos excluídos apresentaram metodologia incompatível ou dados presente em outro estudo já excluído. Dentre os 13 artigos, 5 apresentaram análise apenas do protocolo IRT/IRT, enquanto 5 apresentaram apenas IRT/PAP. O único estudo que apresentou uma análise dos dois protocolos, na mesma população, foi feito em Buenos Aires, publicado em 2021, com uma população total de 6.987 neonatos. Os dados encontrados nesse estudo mostraram sensibilidade de 100% e 80%, especificidade de 82,6% e 86,5%, VPP de 4,2% e 4,04% e VPN de 100% e 99,84%, respectivamente para os protocolos IRT/PAP e IRT/IRT. **CONCLUSÃO:** A maioria dos estudos encontrados representaram populações europeias e quase nenhum apresentava uma análise comparativa entres os protocolos selecionado. No entanto, o estudo avaliado sugere uma melhor acurácia do IRT/PAP. Nota-se uma necessidade de maior investimento em projetos comparativos especialmente numa população geneticamente diversa como o Brasil.

Palavras-chave: Triagem neonatal. Fibrose Cística. Imunotripsinogênio. Proteína associada a pancreatite.

ABSTRACT

BACKGROUND: Cystic fibrosis (CF) is an inherited autosomal recessive genetic disorder with an estimated incidence rate in Brazil between 1:7.500 and 1:15.000. The Newborn Screening Program (PTN) in Brazil uses the IRT/IRT protocol, however, this method has been questioned, especially in a multiethnic population, such as Brazil. Therefore, the IRT/PAP protocol comes as an alternative with a better cost and effectiveness than the IRT/DNA protocol. **AIM:** Compare the accuracy of the IRT/IRT and IRT/PAP protocols in newborn blood spot screening (NBS) for CF. **METHODS:** A systematic literature search, registered on PROSPERO as CRD42023395880, was carried out in 2023 comprising Embase, PubMed, Cochrane, Lilacs and Bireme databases, using a question based on PIRO (Population, Index, Response, Outcome). The addressed question was “In newborns (P), the protocol IRT/PAP (I) compare with IRT/IRT (R) has similar accuracy (O)?”. Duplicates were removed and a selection was made based on the analysis of specific criteria. The selected articles had their data extracted and the risk of bias analyzed. The data was analyzed qualitatively using a descriptive method. **RESULTS:** 209 articles were found and 65 were duplicated. Among them, 118 articles were not selected because they did not meet the criteria established. After a complete reading, only 13 articles were selected and only one article had both protocols and was the only one that was not European. Most excluded articles included incompatible methodology or data present in another study that had already been excluded. Among the 13 articles, five presented exclusive analysis for the IRT/IRT protocol, while six articles presented data only for IRT/PAP. The only study to document an analysis on both protocols, with the same population, was made in Buenos Aires and published in 2021. The total population of the study was 6,987 newborns. The data of the study showed sensitivity of 100% and 80%, specificity of 82.6% and 86.5%, VPP of 4.2% and 4.04% and VPN of 100% and 99.84%, respectively for the IRT/PAP and IRT/IRT protocols. **CONCLUSION:** Most of the studies were conducted in European populations and almost none presented a comparative analysis between the selected protocols. However, the mentioned study suggests a better accuracy of IRT/PAP. Therefore, it is necessary to invest in comparative projects, especially in a genetically diverse population such as Brazil.

Keywords: Newborn screening. Cystic Fibrosis. Immunoreactive trypsinogen. Pancreatitis-associated proteins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	OBJETIVOS	8
3	RACIONAL TEÓRICO.....	9
3.1	Triagem Neonatal: aspectos conceituais, históricos e de implantação no Brasil.....	9
3.2	Aspectos Gerais da Fibrose Cística	10
3.3	Protocolos para Triagem Neonatal para Fibrose Cística.....	12
4	METODOLOGIA.....	15
4.1	Delineamento do Estudo	15
4.2	Base de Dados e Estratégia de Busca	15
4.3	Critérios para Seleção dos Artigos Elegíveis	16
4.4	Procedimentos de Coleta e Extração de dados.....	17
4.5	Análise de Risco de Viés	17
4.6	Estratégia de Síntese dos Dados.....	17
4.7	Aspectos Éticos	18
5	RESULTADOS	19
5.1	Busca e seleção de artigos	19
5.2	Características dos estudos incluídos.....	22
5.3	Risco de viés dos estudos incluídos.....	24
5.4	Síntese dos resultados	25
6	DISCUSSÃO	27
7	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

Fibrose Cística (FC) é uma doença hereditária autossômica recessiva que afeta o gene *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) responsável por codificar uma proteína reguladora da condutância transmembrana de cloro. No mundo, a FC tem uma incidência entre 1:2.000 e 1:10.000 nascidos vivos (NV) ¹. No Brasil, os dados existentes mostram incidência entre 1:7.500-15.000 NV, com diferenças regionais, principalmente por sua maior ocorrência em descendentes de caucasianos ^{2,3}. No entanto essa incidência provavelmente não reflete a realidade, tendo em vista as desigualdades entre os estados brasileiros o que faz com que a triagem não apresente resultados operacionais homogêneos em todo o país, tais como heterogeneidade na cobertura, capacidade de diagnóstico clínico, quando a TN não detecta o doente, entre outros, subestimando a frequência da doença ⁴.

No Brasil, o Programa de Triagem Neonatal (PTN) estabelece o diagnóstico presuntivo através da dupla análise dos níveis da tripsina imunorreativa (IRT). No entanto, o aumento do IRT não é exclusivo da FC, este decresce depois das primeiras semanas de vida, sendo muito impactado pelo tempo de coleta, com grande possibilidade de apresentar um alto número de falsos-positivos ⁵⁻⁷.

Por isso, em alguns países têm sido implementada uma segunda etapa na análise, por meio da análise de DNA. Entretanto esse método tem uma aplicabilidade limitada em países miscigenados, com predomínio de populações não caucasianas, além de levar a um estresse maior da família e um custo maior com diagnósticos de RNs que são portadores de variantes genéticas, mas são assintomáticos¹.

Dessa forma, em 1994 foi sugerido o uso da proteína associada a pancreatite (PAP) como marcador na triagem neonatal para Fibrose Cística ⁸. Essa proteína é secretada pelo dano pancreático, apresentando uma maior sensibilidade que o IRT e uma melhor aplicabilidade que o DNA em populações geneticamente diversas ^{8,9}. Todavia, o uso do PAP em protocolos de TN vem sofrendo alterações ao longo do tempo, o que leva a uma fragilidade nos dados publicados e dificulta a sua adesão por órgãos de saúde pública em programas de triagem neonatal (TN) para a FC ⁷.

Sendo assim, uma análise ampla das publicações em torno da triagem neonatal para Fibrose Cística com o uso do PAP como um dos elementos para a estratégia de triagem se faz necessária de forma que se possa embasar gestores de saúde acerca da escolha do protocolo mais adequado à população e com melhor acurácia e custo-efetividade.

2 OBJETIVOS

Primário: Comparar a acurácia da triagem neonatal para Fibrose Cística entre os protocolos IRT/IRT e IRT/PAP.

Secundários:

- Comparar o percentual de perda amostral e o tempo de coleta das amostras nos protocolos: IRT/IRT e IRT/PAP.
- Investigar se existe vantagem no custo- efetividade entre os protocolos IRT/IRT e IRT/PAP.

3 RACIONAL TEÓRICO

3.1 Triagem Neonatal: aspectos conceituais, históricos e de implantação no Brasil.

A TN é uma prática que possibilita a detecção de doenças congênitas, doença infecciosas e autoimune, possibilitando o diagnóstico e o tratamento precoce e prevenindo morbidade e mortalidade ¹⁰. No mundo, as doenças congênitas representam um impacto em 6% dos partos anuais sendo que a maioria pode ser identificada através da TN ¹¹. Dessa forma em 1963, foi iniciado a TN através da testagem para fenilcetonúria (PKU) e hoje os testes são capazes de detectar mais de 50 doenças ¹². Segundo a OMS, 70% das doenças congênitas podem ser prevenidas ou receber tratamento precoce, o que reduz os danos a longo prazo, e aumenta a expectativa de vida dessas crianças ¹¹. No Brasil, nos anos 2000, as doenças congênitas eram a segunda maior causa de mortalidade em crianças menores que um ano, ultrapassando outras doenças devido a maior assistência à saúde perinatal ¹³.

Na América Latina, a introdução da TN começou no México em 1975 e, após alguns meses, no Brasil em 1976 ¹⁰. No entanto um programa nacional só foi implantado em 1986 em Cuba ¹⁰. No Brasil, em 2001, foi instituída uma normativa que incorporava a TN ao Sistema Único de Saúde (SUS), iniciando o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) através da Portaria GM/MS nº 822, de 6 de junho de 2001 ^{14,15}. O PNTN foi organizado em três fases de implementação: fase I – hipotireoidismo congênito e PKU; fase II – hipotireoidismo congênito, PKU e hemoglobinopatias; fase III - hipotireoidismo congênito, PKU, hemoglobinopatias e fibrose cística ^{15,16}, que foi iniciada na Bahia em 2015 ¹⁷.

Nos últimos anos, a cobertura da TN nos países da América Latina tem se mostrado heterogênea, com uma média de cobertura de 67% e com programas que englobam cerca de 30 doenças e outros que englobam apenas algumas ^{18,19}.

No Brasil, apesar do planejamento, a triagem se depara com algumas dificuldades como: disponibilidade de recursos materiais e humano necessário para atender toda a população, implementação de serviços de referência em triagem neonatal (SRTN) capacitados que atendam em toda sua extensão

territorial e adequação à situação dos usuários^{16,20,21}. Todavia a cobertura média no Brasil se encontra entre 80-90%, no entanto a cobertura da TN no país apresenta uma alta heterogeneidade tendo uma menor abrangência nas áreas mais remotas e negligenciadas, com pior índice de desenvolvimento e, conseqüentemente, piores condições socioeconômicas^{4,16,22-24}.

Um dos objetivos da agenda da OMS para 2030 é a expansão da equidade do acesso aos serviços de promoção a saúde e prevenção a agravos, especialmente, em populações vulneráveis²⁵. Dessa forma, o Projeto de Lei 3258/21 sugere a incorporação de 5 novas síndromes: galactosemia, deficiência de G6PD, leucínose, imunodeficiência combinada grave (SCID) e doenças lisossomais que se juntarem as 6 doenças já incluídas atualmente, fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias, fibrose císticas, hiperplasia adrenal congênita e deficiência de biotinidase.

3.2 Aspectos Gerais da Fibrose Cística

Dentre as doenças congênitas detectadas atualmente, nós temos a fibrose cística. A FC foi primeiramente descrita por Andersen²⁶ como fibrose cística do pâncreas em 1938, devido a 42 casos da doença que até então não se sabia a causa. Inicialmente a FC era fatal no primeiro ano de vida na maioria dos casos²⁶, no entanto a média atual de sobrevivência é de 30 anos com mais de 50% dos pacientes com mais de 18 anos²⁷. Atualmente no Brasil, a idade média dos indivíduos diagnosticados com FC é de um pouco mais de 13 anos, todavia existem pessoas diagnosticada com mais 50 anos⁴. Sendo assim, a FC não é mais uma doença exclusiva da criança e passa a ser também uma doença do adulto, sendo que no Brasil existe uma alta taxa de adultos com mais de 60 anos^{3,4,28}. Segundo estudos recentes, o Brasil apresenta cerca de 6.412 seguimentos/ano de FC, principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Nordeste, com aproximadamente 70% de caucasianos e 25% de pardos, com uma redução gradativa da idade de diagnóstico, em 2021 a idade média era em torno de 3,4 meses, principalmente devido à implementação e execução da TN, no entanto na análise geral a média de idade no diagnóstico é em torno de 5 anos⁴.

Atualmente, já se sabe que a FC é causada por alguma mutação no gene da CFTR. O CFTR funciona como regulador da adenosina monofosfato (AMP) cíclica dos canais de cálcio da superfície apical das células epiteliais ²⁹. As mutações do gene CFTR são categorizadas nas seguintes classes: produção (Classe I), processamento (Classe II), regulação (Classe III), condução (Classe IV), síntese reduzida (Classe V) e degradação acelerada (Classe VI) ³⁰. A doença tende a se apresentar com um aumento da viscosidade do muco que pode bloquear as vias aéreas e/ou os ductos pancreáticos ¹⁴, podendo ser clinicamente subdividida em: manifestações pulmonares, manifestações intestinais e outras manifestações ³⁰.

O diagnóstico da FC pode ser feito através de ao menos um achado fenotípico, uma TN positiva ou uma história familiar positiva acompanhado de um teste do suor positivo, uma diferença de potencial nasal positiva ou duas variantes patogênicas da CFTR ^{28,29}. Os achados fenotípicos podem ser manifestações da doença sinopulmonar crônica, anormalidades gastrointestinais e nutricionais, podendo ser intestinais, pancreáticas, hepáticas e nutricionais, síndromes perdedoras de sal e anormalidades urogenitais ²⁹. Na maioria dos casos, o achado inicial é devido a sintomas respiratórios persistentes, má nutrição, esteatorreia, obstrução intestinal ou histórico familiar ^{28,29}. Podendo ainda ter apresentações menos comuns como: íleo meconial, anorexia associada a vômitos e alcalose metabólica e hipoalbuminemia associada a anemia ³¹.

Uma série de tratamentos e mudanças no hábito de vida podem ser feitas para melhorar a expectativa e qualidade de vida de um paciente com a doença ³². Dessa forma, o diagnóstico precoce tem um papel essencial no encaminhamento necessário a esses pacientes e isso tem melhorado muito devido a inclusão da patologia no PNTN ³. Por isso a inclusão da FC na 3ª fase do PNTN levou em consideração a frequência na população, a possibilidade de tratamento e os benefícios gerados na saúde pública ¹⁵.

Dentre os benefícios do diagnóstico precoce através da TN para fibrose cística, nós podemos citar: a prevenção de doenças pancreáticas, deficiência nutricionais, complicações hepáticas e infecções específicas, o aumento da sobrevivência, a otimização do crescimento, a redução da sobrecarga de

cuidado, dos efeitos psicológicos e da ansiedade na família, além de um melhor custo-efetividade em comparação a lidar com as intercorrências da doença ³³

No Brasil, os casos e o número de morte devido a FC têm aumentado ao longo das últimas décadas, provavelmente devido ao melhor diagnóstico após a inclusão da doença na TN, reduzindo assim o subdiagnóstico ³. No entanto, a triagem neonatal para FC ainda varia muito no âmbito nacional, principalmente devido às desigualdades socioeconômicas entre os estados, apresentando coletas tardias ou dificuldade de seguimento após o diagnóstico que levam a perdas que poderiam ser evitadas ^{17,34,35}.

3.3 Protocolos para Triagem Neonatal para Fibrose Cística

Segundo a Sociedade Europeia de Fibrose Cística, alguns pontos devem ser avaliados antes de instituir a FC na TN, sendo estes: uma incidência maior que 1:7000, o protocolo utilizado deve apresentar uma taxa menor que 0,5% de testes repetidos, um valor preditivo positivo mínimo de 0,3, uma sensibilidade mínima de 95%, testes feitos até 35 dias com um máximo de 58 dias e a possibilidade de teste do suor para os casos suspeitos, além da disponibilidade de centro de referência ³⁶. Entretanto, alguns desafios são encontrados na escolha de um protocolo adequado como: testes com maior sensibilidade possível dentre de uma especificidade aceitável, protocolos bem definidos, métodos laboratoriais adequados, estudos de coorte para analisar a devida acurácia do teste, incidências muito pequenas, prevenção de diagnósticos tardios e falta de acompanhamento ³⁷. Por isso, antes de escolher um protocolo é necessário analisar o custo-efetividade incluindo a incidência, a viabilidade do cuidado a esses pacientes e a equidade do desempenho em todas as subpopulações existentes ³⁸, além de avaliar as características genéticas, étnicas e raciais da população ³⁹.

Dessa maneira no contexto da Fibrose Cística (FC), três são os principais marcadores utilizados na TN: tripsina imunoreativa (IRT), análise genética (DNA) e proteína associada a pancreatite (PAP). O uso do IRT foi o pioneiro, utilizado em 1980 nos laboratórios da Austrália e Europa, com intuito de incorporar a FC na TN já existente para fenilcetonúria (PKU) e hipotireoidismo congênito (HC) ⁴⁰. Já em 1990, a análise genética (DNA) do gene CFTR foi estudada como

potencial marcador em conjunto com o IRT em populações francesas ⁴¹. O PAP surge em 1994 como possível marcador, mas é inicialmente implementada nos protocolos somente em 2005 ^{9,42}. Assim, as estratégias diagnósticas para a FC na TN envolvem a combinação destas três possibilidades isoladamente ou em conjunto.

Para a seleção do melhor teste diagnóstico, os órgãos de saúde pública levam em consideração a performance do teste (sensibilidade, especificidade, prevalência, valor preditivo positivo e negativo), o seu custo-efetividade e viabilidade da sua implantação ⁴³. Para o estudo de custo-efetividade, além desses aspectos leva-se em consideração os custos de implementação, triagem, diagnóstico, testes confirmatórios, diagnóstico clínico de casos não diagnosticados na triagem e o tratamento dos pacientes diagnosticados na triagem e diagnosticados clinicamente ⁴⁴. Um paciente não diagnosticado na triagem tende a ter um tratamento cerca de 10 vezes mais custoso do que aqueles diagnosticados, mostrando o quão importante é o diagnóstico precoce da FC ⁴⁴.

Segundo o PNTN, a análise do IRT deve ser realizada em amostras coletadas entre o 3º e 5º dia de vida, não ultrapassando os 30 dias de vida, e deve ser confirmada com uma segunda análise do IRT, em nova amostra coletada por volta de 15º dia de vida. Um teste confirmatório de suor, apenas quando os dois primeiros IRT estiverem elevados, deve ser realizado. O IRT é considerado elevado em níveis superiores a 70 ng/mL em sangue, determinado pelo Ministério da Saúde em conjunto com o Grupo Brasileiro de Estudos da Fibrose Cística ⁵. No entanto, a realidade é que muitas amostras de IRT são coletadas após os 30 dias, impactando o diagnóstico e tratamento precoce dessa população e não evitando a necessidade de se realizar o teste do suor, o que sobrecarrega o sistema de saúde e atrasa o diagnóstico, mesmo com a TN ¹⁷.

Além disso, o uso da estratégia atual, IRT/IRT, tem sido apontada como controversa na literatura devido ao elevado número de falso-negativos ou diagnósticos não realizados ^{39,45-47}. Já quando pensamos no uso de uma estratégia mais sensível, IRT/DNA, nos esbarramos na dificuldade real do custo, na alta miscigenação da população, nas dificuldades de execução e de consentimento por parte dos pais ^{1,2,47-49}.

Dessa forma, o uso do PAP, ao invés do DNA, parece ter a capacidade de reduzir o número de diagnósticos de carreadores assintomáticos, dificuldades de consentimento, diagnósticos equivocados devidos variantes não conhecidas em populações miscigenadas, detecção incidental de paternidade e custos ^{9,50,51}. Quando proposto por Sarles em 2005, o ponto de corte do PAP estabelecido era 3.0 µg/L em amostras com IRT entre 50-100µg/L e 1.6 µg/L em amostras com IRT maior que 100 µg/L ⁴². No entanto, em 2010, Sommerburg sugeriu um ponto de corte de 1.6 µg/L em amostras com IRT elevado considerado um ponto de corte variável com percentil 99º (p99) associado a um novo teste IRT ⁵². Países como Portugal, Áustria, Argentina, Alemanha, Holanda, República Checa dentre outros já começaram a introduzir com o sucesso o uso do PAP como um dos testes na triagem neonatal para FC ^{9,53-55}.

Dessa forma, o uso do protocolo IRT/PAP aparenta ser mais adequado às características da população brasileira e ter um melhor custo-efetividade. Em estudo piloto na Argentina, o método IRT/PAP apresentou uma sensibilidade média de 100%, uma especificidade média de 82,6%, um valor preditivo positivo médio de 4,2% e um valor preditivo negativo médio de 100% ⁵⁶. Em relação ao custo-benefício, o protocolo IRT-PAP apresentou um menor custo por ano de vidas ganho e uma redução no número de testes do suor realizados ⁴⁴. Portanto em conjunto com esses benefícios e devido à dificuldade concreta de execução da segunda amostra de IRT ¹⁷, a diminuição da concentração do IRT ao passar dos dias e o evento contrário no PAP ^{38,56,57}, o protocolo IRT/PAP aparenta ser o que melhor se enquadra na realidade brasileira atual.

Em suma, uma revisão sistemática que possa trazer um apanhado dos dados sobre o protocolo IRT/PAP e IRT/IRT e comparar estes pode servir como base para a realização de estudos pilotos com foco em mudanças no protocolo utilizados pelo PNTN. Para que assim, o protocolo para FC incorpore a realidade e as especificidades da população brasileira.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo de Revisão Sistemática de Literatura cuja pergunta de investigação, correspondente ao mnemônico PIRO (**P**opulação, teste **I**ndex, teste **R**eferência, desfech**O**s) com a seguinte aplicação: em recém-nascidos submetidos a TN para FC (P), a estratégia IRT/PAP (I) comparada à estratégia IRT/IRT (R) resulta em melhor acurácia, tempo de diagnóstico e custo-efetividade (O)?

4.2 Base de Dados e Estratégia de Busca

As bases de dados *Embase*, *PubMed*, *Cochrane*, *Lilacs* e *Bireme* foram consultadas, no dia 02 de maio de 2023. Foram utilizados os dicionários de descritores em saúde sugeridos por cada base de dados, e assim os termos selecionados nos dicionários nortearam a busca de dados em conjunto com os operadores booleanos “AND” e “OR”. Outras revisões sistemáticas e referências de agências e associações internacionais foram utilizadas para identificar artigos que pudessem não ser coletados na busca estruturada, no entanto não foram utilizados artigos de literatura cinzenta. A tabela 1 detalha a sintaxe de busca utilizada em cada uma das bases de dados:

Tabela 1 – Estratégias de busca dos artigos segundo cada base de dados utilizada.

Dicionário (Base de dados)	FC	IRT	PAP
Decs (Lilacs) (Bireme)	Fibrose Cística OR		
	Mucoviscidos OR Fibrosis		Proteínas Associadas a
	Quística OR Mucoviscidosis OR		Pancreatite OR Proteína 1
	Cystic Fibrosis OR Cystic		Associada a Pancreatite OR
	Fibrosis of Pancreas OR Cystic	Tripsinogênio	Proteína 3 Derivada de
	Fibrosis, Pancreatic OR Cystic	imunorreativo OR	Ilhotas em Regeneração OR
	Fibrosis, Pulmonary OR	Tripsina	Proteína Associada a
	Fibrocystic Disease of Pancreas	Imunorreativa OR	Pancreatite OR Proteína
	OR Fibrosis, Cystic OR	Tripsinogênio OR	Derivada de Ilhotas em
	Mucoviscidosis OR Pancreas	Trypsin OR	Regeneração OR Proteínas
	Fibrocystic Disease OR	Tripsinógeno	Derivadas de Ilhotas em
Pancreas Fibrocystic Diseases		Regeneração OR Proteínas	
OR Pancreatic Cystic Fibrosis		Associadas a Pancreatitis OR	
OR Pulmonary Cystic Fibrosis		Pancreatitis-Associated	
		Proteins	

Dicionário (Base de dados)	FC	IRT	PAP
Entree (Embase)	cystic fibrosis, pancreas OR cystic pancreas fibrosis OR cystic pancreatic fibrosis OR fibrocystic disease OR fibrocystic disease, pancreas OR mckusick 21970 OR mucoviscidosis OR mucoviscidosis OR pancreas cystic disease OR pancreas cystic fibrosis OR pancreas fibrocystic disease OR pancreas fibrosis OR pancreatic cystic disease OR pancreatic cystic fibrosis OR pancreatic fibrosis	IRT OR immunoreactive trypsinogen OR immunoreactive trypsin OR IRT/PAP OR IRT- PAP OR IRT/IRT OR IRT-IRT	PAP OR pancreatitis- associated proteins OR regenerating islet-derived protein
MESH (Pubmed) (Cochrane)	Cystic Fibrosis OR Mucoviscidosis OR Pancreatic Cystic Fibrosis OR Pancreatic Cystic Fibrosis OR Cystic Fibrosis, Pancreatic OR Fibrocystic Disease of Pancreas OR Pancreas Fibrocystic Disease OR Pancreas Fibrocystic Diseases OR Cystic Fibrosis of Pancreas OR Pulmonary Cystic Fibrosis OR Cystic Fibrosis, Pulmonary	IRT OR Immunoreactive trypsinogen OR Trypsinogen	PAP OR Pancreatitis Associated Proteins OR Regenerating Islet-Derived Protein OR Islet-Derived Protein, Regenerating OR Islet Derived Protein OR Regenerating Islet-Derived Proteins OR Regenerating Islet Derived Proteins OR Pancreatitis-Associated Protein-1 OR Pancreatitis Associated Protein 1 OR Pancreatitis-Associated Protein OR Pancreatitis Associated Protein OR Protein, Pancreatitis- Associated OR Regenerating Islet-Derived Protein 3 OR Regenerating Islet Derived Protein 3

Fonte: Produção autoral

4.3 Critérios para Seleção dos Artigos Elegíveis

Foram incluídos estudos de coorte, transversais, de agregados, e análises de custo efetividade. Os critérios de inclusão foram: populações de neonatos que foram triados para Fibrose Cística, estudos que possuam dados de acurácia dos protocolos ou de comparação entre os protocolos IRT/IRT e IRT/PAP. Os

critérios de exclusão foram populações em que não seja possível identificar se todos foram triados do 1º ao 28º dia de vida e/ou não foram triados para Fibrose Cística, e que não possuam dados suficientes para comparar a acurácia ou não apresentavam dados dos protocolos de triagem avaliados.

4.4 Procedimentos de Coleta e Extração de dados

Artigos duplicados foram identificados e descartados através da plataforma *Rayyan*®⁵⁸ e com revisão manual atenciosa. Todos os artigos restantes, na mesma plataforma, foram incluídos e avaliados para inclusão, por dois pesquisadores independentes e de forma cega, por meio da leitura de títulos e resumos (fase 1). Eventuais divergências foram consensuadas por um terceiro pesquisador. A seguir, os mesmos revisores da mesma forma, realizaram a leitura completa dos artigos incluídos (fase 2) para a seleção dos que seguiram para a fase de extração (fase 3). Todas as fases foram realizadas pela mesma dupla de revisores, com a resolução de conflitos por um terceiro revisor, que mediu a decisão final.

Os dados foram extraídos pela mesma dupla de revisores usando uma planilha eletrônica no MS-Excel® versão 2312. Foram coletados dados sobre (1) identificação, (2) critérios de elegibilidade abarcados no artigo, (3) população, (4) protocolos presentes no estudo, (5) métodos, (6) resultados encontrados e (7) dados para análise de risco de viés.

4.5 Análise de Risco de Viés

Foi feita uma análise de risco de viés com a ferramenta QUADAS-2^{59,60} usando os domínios apropriados, incluindo critérios como seleção da população usada, teste index, referência padronizada, tempo e fluxo. Dois revisores fizeram a análise de risco e viés, com cegamento, e um terceiro revisor mediu a decisão se necessário.

4.6 Estratégia de Síntese dos Dados

Foi feita uma síntese qualitativa dos dados usando um método descritivo incluindo similaridade, diferenças, classificações e padrões entre os estudos analisados.

4.7 Aspectos Éticos

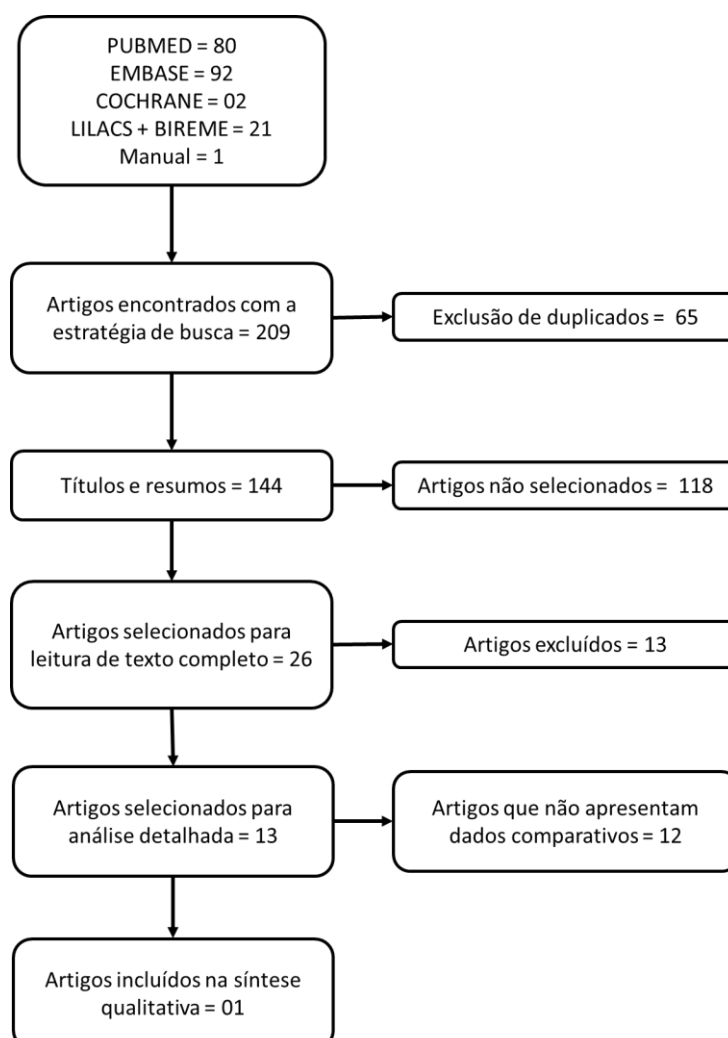
Este trabalho está incluído em outra revisão sistemática, que compara o protocolo IRT/IRT com IRT/PAP e IRT/PAP/IRT que foi registrado no PROSPERO através do código CRD42023395880 para garantir a transparência do processo. Até o presente momento, o protocolo foi modificado duas vezes. A primeira atualização foi feita pela exclusão do registro do protocolo do estudo na instituição Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, pois foi decidido registrar apenas na APAE. A segunda atualização visou substituir o odds ratio como medida de efeito pelo hierarchical summary receiver operating characteristic curve (HSROC) nos desfechos primários e pelo risco relativo (perda de amostra e custo-efetividade) e diferença de média (tempo para primeira coleta do IRT e tempo de coleta do PAP) nos desfechos secundários.

5 RESULTADOS

5.1 Busca e seleção de artigos

Depois de aplicada a estratégia de busca descrita acima, foram encontrados 209 artigos que foram inseridos no programa *Rayyan*⁵⁸. Foi feita a exclusão dos artigos duplicados e, nos 144 artigos restantes foi feita a leitura de títulos e resumos, dos quais 26 artigos foram selecionados segundo os critérios de inclusão e exclusão para a sua leitura na íntegra. No final da análise, 13 artigos foram incluídos nessa revisão sistemática sendo que apenas um foi incluído na análise final (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma com a síntese de busca e seleção de artigos.



Fonte: Produção autoral

Após a leitura completa dos textos, 13 artigos foram excluídos, pois apresentavam metodologia incompatível, dados insuficientes ou dados

secundários a outro estudo que já estava incluso na revisão sistemática. A tabela 2 sumariza todos os artigos que foram excluídos nessa etapa com seus devidos motivos de exclusão.

O motivo predominante para exclusão foi a conclusão que a metodologia era incompatível com o objetivo determinado nessa revisão sistemática. Dessa forma, estudos foram excluídos quando utilizavam dados matemáticos como os estudos de custo-efetividade, analisavam apenas métodos que incluíam DNA como uma das etapas, não analisavam ou não tinham dados suficientes para a correta avaliação da acurácia do diagnóstico.

O segundo motivo predominante para exclusão foi a percepção que os mesmos dados proviam ou eram uma parte de um outro estudo que já estava incluso nessa revisão sistemática. Essa decisão foi feita para evitar que os mesmos dados sejam analisados de forma duplicada e interferissem assim na comparação entre os dois métodos de triagem.

Apenas um estudo foi excluído por não ter dados suficientes, pois não foi possível encontrar uma publicação em uma revista científica e os dados apresentados no resumo para congresso encontrado não eram suficientes para sua análise efetiva.

Tabela 2 – Estudos excluídos após seleção para leitura completa.

Título do estudo	Autoria	Motivo da exclusão
A product of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein as second-tier strategy in cystic fibrosis newborn screening	Weidler, 2016 ⁶¹	Metodologia incompatível
PAP assays in newborn screening for cystic fibrosis: A population-based cost-effectiveness study	Seror, 2010 ⁵¹	Dados secundários a outro estudo já incluído
Prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in the Czech Republic: IRT/DNA/IRT versus IRT/PAP and IRT/PAP/DNA	Krulišová, 2012 ⁵⁰	Dados secundários a outro estudo já incluído
The influence of sex, gestational age, birth weight, blood transfusion, and timing of the heel prick on the pancreatitis-associated protein concentration in newborn screening for cystic fibrosis	Langen, 2013 ⁵⁷	Metodologia incompatível

Impact of Pancreatitis-Associated Protein on Newborn Screening Outcomes and Detection of CFTR-Related Metabolic Syndrome (CRMS)/Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID): A Monocentric Prospective Pilot Experience	Bianchimani, 2022 ⁶²	Metodologia incompatível
Newborn Screening on Cystic Fibrosis in Germany: Comparison of the new Screening Protocol with an Alternative Protocol	Sommerburg, 2017 ⁶³	Metodologia incompatível
Cost-effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis determined with real-life data	Van der Ploeg, 2014 ⁴⁴	Metodologia incompatível
A study encouraging the use of IRT/PAP strategy for neonatal screening of cystic fibrosis.	Palmieri	Dados insuficientes
A model-based economic evaluation of four newborn screening strategies for cystic fibrosis in Flanders, Belgium	Schmidt, 2019 ⁶⁴	Metodologia incompatível
Cost effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis: A simulation study	Nshimyumukiza, 2013 ⁶⁵	Metodologia incompatível
Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population	Sommerburg 2010 ⁵²	Dados secundários a outro estudo já incluído
Cystic fibrosis newborn screening in Portugal: PAP value in populations with stringent rules for genetic studies	Marcão, 2018 ⁵⁴	Metodologia incompatível
Cystic Fibrosis Newborn Screening in Austria Using PAP and the Numeric Product of PAP and IRT Concentrations as Second-Tier Parameters	Zeyda, 2021 ⁵³	Metodologia incompatível

Fonte: Produção autoral

Depois da leitura detalhada dos 13 artigos restantes, 12 artigos foram excluídos por não apresentarem dados comparativos da mesma população que permitissem atingir o objetivo dessa revisão sistemática (Tabela 3). Esses estudos foram publicados entre 2012 e 2024, sendo que cinco artigos apresentavam análise apenas do método IRT/IRT e sete artigos apenas do método IRT/PAP (Tabela 3). Um artigo foi selecionado, pois apresentava os dois métodos.

Tabela 3 – Estudos excluídos após seleção para leitura detalhada.

Título do estudo	Autoria	Protocolo analisado
A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe.	Munck, 2022 ⁶⁶	IRT/IRT
Papel de la proteína asociada a pancreatitis en el cribado neonatal de la fibrosis quística.	Pecellín, 2022 ⁶⁷	IRT/IRT
Results of the Andalusian Cystic Fibrosis Neonatal Screening Program, 5 Years After Implementation.	Pecellín, 2018 ⁶⁸	IRT/IRT
Initial evaluation of prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in eastern Andalusia: IRT/IRT versus IRT/PAP/IRT.	Sadik, 2019 ⁶⁹	IRT/IRT
Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis.	Sarles, 2005 ⁴²	IRT/IRT
Thirty-years of screening for cystic fibrosis in East Anglia.	Calvin, 2012 ⁷⁰	IRT/IRT
Neonatal screening for cystic fibrosis: Comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP.	Sarles, 2014 ⁷¹	IRT/PAP
Final results of the southwest German pilot study on cystic fibrosis newborn screening – Evaluation of an IRT/PAP protocol with IRT-dependent safety net.	Sommerburg, 2022 ⁷²	IRT/PAP
Five years of experience with biochemical cystic fibrosis newborn screening based on IRT/PAP in Germany.	Sommerburg, 2015 ⁷³	IRT/PAP
Comparison of different IRT-PAP protocols to screen newborns for cystic fibrosis in three central European populations.	Sommerburg, 2014 ⁵⁵	IRT/PAP
Jahre Mukoviszidose-Screening für Neugeborene in Mecklenburg-Vorpommern: Ein Erfahrungsbericht für die bundesweite Einführung.	Winter, 2016 ⁷⁴	IRT/PAP
Novel strategies in newborn screening for cystic fibrosis: A prospective controlled study.	Langen, 2012 ⁷⁵	IRT/PAP

Fonte: Produção autoral

5.2 Características do estudo incluído

O estudo de Teper *et. al* foi publicado em 2021 na revista *Pediatric Pulmonology* com dados compreendo o período de 01 de janeiro 2015 até 30 de setembro de 2017 em todas as 12 maternidades públicas da cidade de Buenos Aires na Argentina. A hipótese analisada no estudo foi que a utilização do método IRT/PAP reduziria a necessidade de segunda amostra sem diminuir a acurácia diagnóstica em comparação ao protocolo IRT/IRT (Tabela 4).

Tabela 4 – Características do estudo incluído.

Autoria	Tipo de estudo	Período de estudo	País do estudo	Objetivo principal
Teper, 2020 ⁵⁶	Observacional prospectivo	2015-2017	Argentina	Comparar prospectivamente as estratégias IRT/IRT e IRT/PAP

Legenda: IRT: imunotripsinogenio imunorreativo, PAP: proteína associada a pancreatite
Fonte: Produção autoral.

Os dois métodos foram aplicados simultaneamente sendo que apenas uma amostra era analisada para a 1ª etapa de ambos os protocolos e, quando alterado, no caso do protocolo IRT/IRT uma segunda amostra era necessária, porém no caso do protocolo IRT/PAP a dosagem do PAP foi feita naquela mesma primeira amostra. Como demonstrado na tabela 5, o estudo englobou uma população de 69827 neonatos sendo que 918 (1,3%) apresentaram um valor elevado de IRT e foram submetidos ao segundo teste nas duas estratégias, esses pacientes eram reconvocados para a realização de um segundo teste IRT e a amostra já coletada era submetida a análise do PAP. No entanto 207 pacientes não voltaram para realização do segundo IRT, representando uma perda de seguimento em 22,5% dos pacientes, ao contrário do protocolo IRT/PAP que a perda de seguimento ocorreu em apenas dois casos (0,2%) devido a problemas técnicos.

Tabela 5 - Características populacionais e metodológicas do estudo incluído.

Autoria	Método	Triados (N)	Kit 1º Teste	Kit 2º Teste	População 2º Teste (N)
Teper, 2020 ⁵⁶	IRT/PAP	69827	AutoDELFIA	MucoPAPkit, Dynabio SA	916
	IRT/IRT			AutoDELFIA	711

Legenda: IRT: imunotripsinogênio imunorreativo, PAP: proteína associada a pancreatite
Fonte: Produção autoral

Ao final da TN, 205/918 (33,6%) testaram positivo no protocolo IRT/IRT, sendo que 101/918 (11%) tiveram o segundo teste IRT positivo e 207/918 (22,6%) não realizaram o segundo teste e 165/918 (18%) com o protocolo IRT/PAP sendo que ambos os grupos foram submetidos ao Teste do Suor para confirmação diagnóstica representando 152/918 (16,6%) excluindo 13 pacientes que faleceram antes da realização do teste. Os pontos de corte utilizados, mostrado

na tabela 6, foram estabelecidos em análises populacionais prévias feitas na Argentina e em outros estudos dos protocolos ^{42,76}. O tempo médio de confirmação do diagnóstico foi de 41 ± 13 dias. Para os pacientes com diagnóstico confirmado de FC, o IRT 1 foi, em média (DP), de $146,6 (\pm 51,0)$ ng/mL, o IRT2 foi de $215,7 (\pm 77,00)$ ng/mL e o PAP médio (DP) foi de $3,3 (\pm 2,0)$ ng/mL.

Tabela 6 - Características populacionais e metodológicas do estudo incluído.

Autoria	Método	Ponto de corte IRT	Ponto de corte 2º Teste	Etapa de segurança
Teper, 2020 ⁵⁶	IRT/PAP	≥ 50 ng/mL	$> 1,6$ ng/L (se IRT 50–100 ng/mL) ou $> 0,5$ ng/L (se IRT > 100 ng/mL)	NA
	IRT/IRT	≥ 50 ng/mL	≥ 50 ng/mL	NA

Legenda: NA: não se aplica

Fonte: Produção autoral

5.3 Risco de viés dos estudos incluídos

A figura 2 descreve a análise de risco de viés do estudo de Teper *et al*, 2020, mostrando os itens do QUADAS-2 de acordo com domínios propostos pela ferramenta e adequados à pergunta do estudo. O estudo analisado conseguiu reduzir o risco de viés ao descrever de maneira satisfatória a seleção dos pacientes, os pacientes incluídos, perdas no seguimento, as etapas do protocolo além de justificar os pontos de corte, acrescentaram um tempo de observação que permitisse a detecção de falso negativos (FN) e utilizaram o mesmo teste de referência. No entanto, esse mesmo estudo apresenta alto risco de viés ao não descrever dificuldades no protocolo e na obtenção das amostras, não pontuar as possíveis falhas no Teste do Suor, não descrever os pacientes não incluídos no estudo e o fluxo e ações que ocorreram no período do protocolo, assim como não incluir todos os pacientes na análise. Dessa forma, o fluxo dos pacientes pode ter introduzido viés aos resultados encontrados.

Figura 2 – Tabela com análise de risco de viés pelo QUADAS-2.

Teper, 2020	Descreve os métodos de seleção dos pacientes?	+
	Descreve os pacientes incluídos?	+
	Descreve as perdas no seguimento?	+
	Descreve dificuldades nas etapas do protocolo?	-
	Descreve dificuldades com as amostras?	-
	Descreve de maneira pormenorizada o protocolo?	+
	Os pontos de corte foram justificados?	+
	O protocolo pode ter induzido a vieses?	-
	Descreve o Teste do Suor ou DNA?	+
	Pontua falhas no Teste do Suor ou DNA?	-
	Acrescentou um temoi para observação de FN?	+
	Existe risco do padrão ouro não responder a pergunta dessa RS?	+
	Descreve os pacientes que não foram incluídos?	-
	Descreve o espaço de tempo (fluxo) e ações executadas entre o início e o fim do protocolo?	-
	O tempo do protocolo foi apropriado?	?
O teste de referência foi o mesmo?	+	
Todos os pacientes foram incluídos na análise?	-	
O fluxo de pacientes pode ter introduzido viés?	-	

Fonte: Produção autoral

5.4 Síntese dos resultados

A tabela 7 demonstra os valores de incidência, sensibilidade, especificidade, VPN e VPP apresentados pelo estudo. Pode-se observar que, no estudo em questão, o protocolo IRT/PAP apresenta melhor acurácia do que o protocolo IRT/IRT. Apesar do grande intervalo de confiança no qual os dados estão inseridos, o protocolo IRT/PAP apresenta maiores valores de sensibilidade, VPP e VPN, sugerindo uma melhor acurácia em comparação com o protocolo IRT/IRT.

Tabela 7 – Resultados do estudo incluído.

Autoria	Método	Incidência	Sensibilidade* (IC 95%)	Especificidade* (IC 95%)	VPP* (IC95%)	VPN* (IC95%)
Teper, 2020 ⁵⁶	IRT/PAP	1:9.975	100 (64,6 - 100,0)	82,6 (80,0 – 84,9)	4,2 (2,0 - 8,5)	100 (99,5 - 100,0)
	IRT/IRT	1:9.975	80 (38,0 - 99,0)	86,5 (83,8 - 88,8)	4,04 (1,6 - 9,9)	99,84 (99,1 - 100,0)

*Valores em %

Legenda: VPP: valor preditivo positivo. VPN: valor preditivo negativo.**Fonte:** Produção autoral

6 DISCUSSÃO

Esse estudo teve como objetivo comparar a acurácia da triagem neonatal para Fibrose Cística pelos protocolos IRT/IRT e IRT/PAP, obtendo apenas um artigo em que foi comparado, simultaneamente, os dois protocolos. Assim, essa revisão sistemática confirmou a lacuna científica que existe em relação aos melhores protocolos para a TNFC. Muito se avançou nessa área nos últimos anos, porém nota-se que os artigos científicos ainda são escassos, não comparativos, e com metodologias inapropriadas.

O método IRT/IRT é muito utilizado ao redor do mundo ^{66,77}, no entanto, desde o surgimento de novas estratégias ^{9,42,61}, poucos são os estudos que apresentam comparações entre uma mesma população possibilitando demonstrar diferenças acerca da acurácia do teste. Sendo assim, a manutenção do seu uso de forma rotineira deve ser questionada, pois pode estar baseado em falta de avaliações do método em vigor, sem propostas reais de atualização ou melhorias, bem como de uma falta de investimento em estudos que ponham em prova a efetividade e o custo do método já consolidado. Por isso para uma melhor tomada de decisão em termos de saúde pública, os gestores devem sempre estar atualizados sobre a literatura científica no assunto, além de avaliar o nível da evidência informado, executando e propondo ações transformadoras que impliquem em melhorias e redução de custos ^{78,79}.

Ressalta-se ainda que alguns estudos sugerem que o uso do protocolo com IRT/IRT em comparação ao IRT/PAP é ainda mais problemático quando se analisa uma população com grande heterogeneidade alélica ^{9,50,51}, como foi o caso do estudo incluído nessa revisão e que foi realizado na Argentina ⁵⁶. Em estudo conduzido em Portugal, em 2018, notou-se que ao adotar o método de IRT/PAP obtinha-se o benefício de reduzir o número de portadores saudáveis ou com resultados inconclusivos (CFSPID) ^{9,54}. Sendo assim, em um país ainda mais miscigenado, como o Brasil, os benefícios iriam além de uma melhor acurácia, tendo que ser também, de algum modo, quantificado.

Apesar de atualmente ter uma falta de estudos comparativos, a análise de novos protocolos e avaliação da acurácia de protocolos já existentes para TN de FC vem crescendo ao longo do tempo, o que pode ser visto ao se realizar buscas

na maior plataforma em ciências da saúde, o *Pubmed*. Observa-se, por exemplo, que estudos de IRT/IRT parecem apresentar maior tempo de observação^{10,70}, e uma grande variabilidade no que diz respeito aos laboratórios dos Kits de análise do IRT, como *AutoDELFA*, *FEIA Labsystems*, *GPS* e *FEIA Trimanis*⁶⁶. Além disso, esses também se diferem em termo de pontos de corte e etapas de segurança. Dessa forma não existe uma uniformidade global, o que torna difícil uma comparação entre eles e obviamente resultados de eficácia divergentes^{66,80,81}.

A evolução da TN é um ponto essencial a ser discutido em termo de Saúde Pública, levando em consideração as limitações e a sua importância, já que algumas condições são possivelmente facilmente tratadas em 30% dos casos⁸⁰. No entanto, apenas o diagnóstico não apresenta resolatividade, sendo preciso que ocorra um acompanhamento clínico que possa tanto identificar possíveis falso negativo e uma efetiva prevenção e agravamento da doença⁸².

Ao analisarmos o risco de viés do estudo incluído, podemos observar que o estudo não apresenta descrição da população não incluída no estudo ou uma descrição completa sobre o tempo e ações executadas durante o período do estudo, sendo assim, o estudo pode apresentar risco de viés de seleção e informação. Apesar do objetivo da TN ser identificar recém-nascidos assintomáticos é importante que o acompanhamento clínico possa diagnosticar bebês que foram perdidos na triagem antes do agravamento dos sintomas, ou seja, diagnosticar os falsos negativos⁸², no entanto a maioria dos estudos não apresenta um seguimento claro dos pacientes que foram negativo na triagem.

Outro ponto observado no estudo de viés foi que o estudo analisado não relatou as dificuldades na aplicação do protocolo e na coleta das amostras, como perda amostral ou amostras inadequadas para análise. Na Bahia, o estudo de Godoy *et. al*¹⁷ evidenciou que a TN para FC tem apresentado uma série de dificuldades como: a idade da coleta acima do 5º dia de vida, dificuldades na execução do protocolo e no acompanhamento dos pacientes. Além disso, comparado a maior parte do Brasil, a Bahia tem um panorama relativamente otimista que não se estende para as regiões mais marginalizadas e isoladas^{4,16,22-24}.

Durante o processo de busca e seleção dos artigos, foi observado uma alta diversidade de métodos, a maioria analisa apenas uma única estratégia, e quase a totalidade foi com populações europeias, sendo que apenas um estudo foi realizado na América do Sul, especificamente na Argentina. A centralização dos estudos em regiões como Europa e Estados Unidos é um problema global das publicações científicas. Em 1995, Gibbs já relatava que apenas 2% das discussões científicas vinham de países marginalizados sendo que estes representam 80% do mundo, também demonstrado que essa discrepância é ainda maior nos estudos médicos ⁸³. Em 2005, 13 anos depois, Salager-Meyer relata que mudanças são necessárias para que tenhamos uma ciência verdadeiramente universal para que a produção científica global como em questão de saúde apresente um panorama geral do mundo ⁸⁴.

Como limitações desta revisão sistemática, temos o baixo número de publicações selecionadas, a concentração geográfica da produção científica sobre o assunto com populações geneticamente muito diferentes da realidade brasileira e, a apresentação dos dados na maioria dos estudos de forma confusa ou limitada, com um alto risco de viés em sua maioria.

Em suma, esse estudo se deparou com a realidade da falta de publicações sobre o tema, bem como publicações de baixa qualidade. Ainda, pelo motivo anterior, o encontro de apenas um estudo compatível com a pergunta de investigação, não nos fornece instrumentos para chegar a conclusões em relação às acurácias das duas estratégias. Entretanto, pelos estudos das metodologias individualmente, observa-se que o protocolo IRT/PAP apresenta algumas vantagens, aumentando principalmente o VPP do teste, ou seja, diminuído o número de falsos positivos, podendo ser uma estratégia mais acurada que o IRT/IRT.

Sendo assim, o presente estudo traz à luz o estado da arte atual em relação aos protocolos para TN para FC no mundo e dá respaldo à necessidade de se realizar um estudo piloto de comparação na população brasileira para se certificar se a troca do protocolo IRT/IRT para o protocolo IRT/PAP seria viável, mais acurado e com melhor razão de custo-efetividade.

7 CONCLUSÃO

No estudo atual, não foi possível determinar de forma substancial a acurácia dos protocolos devido à falta de estudos que comparam os protocolos IRT/IRT e IRT/PAP na mesma população na Triagem Neonatal para Fibrose Cística. Após a análise detalhada de 13 artigos foi observado um predomínio de populações europeias, além de que apenas um artigo apresentou dados comparativos e foi incluído na análise qualitativa demonstrando que existe uma falta de estudos comparativos sobre o tema.

Entretanto, esse trabalho apesar de não dar uma resposta definitiva em termos de comparação entre os dois protocolos, demonstra que na análise comparativa de uma população latina e miscigenada, assim como o Brasil, o protocolo IRT/PAP é mais acurado que o IRT/IRT. Dessa forma impulsionando o estado e pesquisadores brasileiros a realizar projetos pilotos comparando as duas estratégias.

REFERÊNCIAS

1. Parad RB, Comeau M, Marie A. Newborn screening for cystic fibrosis. *Pediatr Ann.* 2003;32(8):528–30.
2. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Caldeira Reis F, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *Journal of Cystic Fibrosis.* 2008 Jan;7(1):15–22.
3. de Azevedo LVF, Cruz FCRM, Martins JP, Marson FAL. Cystic Fibrosis: A Descriptive Analysis of Deaths in a Two-Decade Period in Brazil According to Age, Race, and Sex. *Diagnostics.* 2023 Feb 1;13(4):763.
4. Ribeiro AF. Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2021. 2024.
5. Santos GPC, Domingos MT, Witting EO, Riedi CA, Rosário NA. Programa de triagem neonatal para fibrose cística no estado do Paraná: avaliação após 30 meses de sua implantação. *J Pediatr (Rio J).* 2005;81(3):240–4.
6. Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, Bryon M, Duff A, Flume P, et al. European cystic fibrosis society standards of care: best practice guidelines. *Journal of Cystic Fibrosis.* 2014;13:S23–42.
7. Comeau AM, Accurso FJ, White TB, Campbell PW, Hoffman G, Parad RB, et al. Guidelines for implementation of cystic fibrosis newborn screening programs: Cystic Fibrosis Foundation workshop report. In: *Pediatrics.* 2007. p. e495–518.
8. Iovanna JL, Keim V, Nordback I, Montalto G, Camarena J, Letoublon C, et al. Serum Levels of Pancreatitis-Associated Protein as Indicators of the Course of Acute Pancreatitis. *Gastroenterology.* 1994;106(3):726–34.
9. Sommerburg O, Hammermann J. Pancreatitis-associated protein in neonatal screening for cystic fibrosis: strengths and weaknesses. Vol. 6, *International Journal of Neonatal Screening.* MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2020. p. 28.
10. Howson CP, Cedergren B, Giugliani R, Huhtinen P, Padilla CD, Palubiak CS, et al. Universal newborn screening: A roadmap for action. *Mol Genet Metab.* 2018 Jul 1;124(3):177–83.
11. World Health Organization. *Management of Birth Defects and Haemoglobin Disorders.* Geneva; 2006.
12. Therrell BL, Hannon WH. Newborn dried blood spot screening: Residual specimen storage issues. *Pediatrics.* 2012;129(2):365–6.
13. Horovitz DDG, Llerena Jr. JC, Mattos RA de. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. *Cad Saude Publica [Internet].* 2005

- Aug. Acesso em: [24 abril 2023] ;21(4):1055–64. Available from: [http://tabnet.datasus.gov.br/tabnet/]
14. Ministério da Saúde. Triagem Neonatal Biológica: manual técnico. Brasília; 2016. 80 p.
 15. Ministério da Saúde. Portaria N° 822, De 06 de Junho De 2001 [Internet]. 2001. Acesso em: [21 maio 2023]; p. 19. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html]
 16. Botler J, Camacho LAB, da Cruz MM, George P. Neonatal screening - the challenge of an universal and effective coverage. *Cien Saude Colet*. 2010;15(2):493–508.
 17. Godoy C, Paixão DC, Boa-Sorte NCA, Amorim T, da Silva Filho LVRF, Souza EL. Five-year performance analysis of a cystic fibrosis newborn screening program in northeastern Brazil. *J Pediatr (Rio J)*. 2023 Jan 1;99(1):23–30.
 18. Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJC, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. Vol. 39, *Seminars in Perinatology*. W.B. Saunders; 2015. p. 171–87.
 19. Borrajo GJC. Newborn screening in Latin America: A brief overview of the state of the art. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2021 Sep 1;187(3):322–8.
 20. Penchansky R, Thomas JW. The Concept of Access: Definition and Relationship to Consumer Satisfaction. *Med Care*. 1981;19(2):127–40.
 21. Webster D. International developments in newborn screening quality assurance. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* [Internet]. 2004. Cited [2023 april 24] ;34:43–5. Available from: [www.hgsa.com.au]
 22. Mendes IC, Pinheiro D da S, Rebelo ACS, Carneiro LC, Jesuino RSA. General Aspects of the Neonatal Screening in Brazil: A Review. *Revista Médica de Minas Gerais*. 2020;30:e3008.
 23. Mallmann MB, Tomasi YT, Boing AF. Neonatal screening tests in Brazil: prevalence rates and regional and socioeconomic inequalities. *J Pediatr (Rio J)*. 2020 Jul 1;96(4):487–94.
 24. Sadigurschi G, Vaz Micherino B, Assunção Mendes da Cunha MB, Antão Paiva CL, da Silva e Sá GR. Analysis of national coverage of neonatal cystic fibrosis screening in Brazil from 2008 to 2017. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2022;35(25):5204–9.
 25. Dias LR, Tomasi YT, Boing AF. The newborn screening tests in Brazil: regional and socioeconomic prevalence and inequalities in 2013 and 2019. *J Pediatr (Rio J)*. 2024;

26. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathologic study. *American journal of Disease of Children* [Internet]. 1938. Cited [2023 may 21] ;56(2):344–9. Available from: [<http://archpedi.jamanetwork.com/>]
27. Scotet V, L’hostis C, Férec C. The changing epidemiology of cystic fibrosis: incidence, survival and impact of the CFTR gene discovery. *Genes (Basel)*. 2020 Jun 1;11(6):589.
28. Dalcin P de TR, Silva FA de A. Fibrose cística no adulto: aspectos diagnósticos e terapêuticos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2008;34(2):107–17.
29. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. *J Pediatr*. 1998 Apr;132(4):589–95.
30. Ministério da Saúde. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas: Fibrose Cística [Internet]. Brasília; 2022 Aug. Acesso em: [26 maio 2023]. Disponível em: [www.gov.br/conitec]
31. David TJ. Cystic fibrosis. *Archives of Disease in Childhood*. 1990;65:152–7.
32. Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic Fibrosis Adult Care: Consensus Conference Report. *Chest*. 2004;125(1):1S-39S.
33. Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, Tamanini A, Assael BM. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res*. 2018 Apr 1;4(2).
34. Maciel LMZ, Magalhães PKR, Ciampo IRL Del, Sousa MLB de, Fernandes MIM, Sawamura R, et al. The first five-year evaluation of cystic fibrosis neonatal screening program in São Paulo State, Brazil. Vol. 36, *Cadernos de Saude Publica*. Fundacao Oswaldo Cruz; 2020.
35. Godoy C, Radel I, Mota LR, Santos MA, Terse R, Souza EL. Cystic fibrosis: when neonatal screening is unsatisfactory for early diagnosis. *Revista Brasileira de Saude Materno Infantil*. 2024;24:1–7.
36. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Heijerman HGM, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2018 Mar 1;17(2):153–78.
37. Scotet V, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn screening for CF across the globe-where is it worthwhile? *Int J Neonatal Screen*. 2020;6(1):18.
38. Castellani C, Massie J, Sontag M, Southern KW. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016 Aug 1;4(8):653–61.
39. Ren C, Rehani MR, Marcus MS, Bradford Harris A, Farrell P, W N Lo A D DO. Variation in Cystic Fibrosis Newborn Screening Algorithms in the United States. *Pediatr Pulmonol* [Internet]. 2022. Cited [2023 may 31]

- ;58(3):927–33. Available from:
[<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ppul.26279>]
40. Travert G, Heeley M, Heeley A. History of newborn screening for cystic fibrosis - The early years. *Int J Neonatal Screen*. 2020;6(1):8.
 41. Laroche D, Travert G. The Application of PCR Amplification and the Polymorphic Marker KM.19 to Dried Blood Spots: Comparison With Deletion 508 for the Confirmation of the Neonatal Screening Test for Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 1991;11(S7):19–22.
 42. Sarles J, Berthézène P, Louarn C Le, Somma C, Perini JMJM, Catheline M, et al. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis. *Journal of Pediatrics* [Internet]. 2005 Sep. Cited [2023 november 16];147(3):302–5. Available from: [<https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L41345757&from=export>]
 43. Caggana M. Newborn screening for cystic fibrosis: can one algorithm fit all? *Expert Rev Mol Diagn*. 2017 Mar 4;17(3):205–7.
 44. Van der Ploeg CPB, van den Akker-van Marle ME, Vernooij-van Langen AMM, Elvers LH, Gille JJP, Verkerk PH, et al. Cost-effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis determined with real-life data. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2015 Mar 1;14(2):194–202.
 45. Therrell BL, Hannon WH, Hoffman G, Ojodu J, Farrell PM. Immunoreactive trypsinogen (IRT) as a biomarker for cystic fibrosis: Challenges in newborn dried blood spot screening. *Mol Genet Metab*. 2012 May;106(1):1–6.
 46. Kharrazi M, Sacramento C, Comeau AM, Hale JE, Caggana M, Kay DM, et al. Missed Cystic Fibrosis Newborn Screening Cases due to Immunoreactive Trypsinogen Levels below Program Cutoffs: A National Survey of Risk Factors. *Int J Neonatal Screen*. 2022 Dec 1;8(4):58.
 47. Doull IJ, Course C, Hanks R, Southern KW, Forton J, Thia L, et al. Cystic Fibrosis Newborn Screening: the importance of bloodspot sample quality. *Arch Dis Child*. 2021;106(3):253–7.
 48. Perone C, Medeiros GS, Del Castillo DM, De Aguiar MJB, Januário JN. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* [Internet]. 2010. Cited [2023 may 20];43:134–8. Available from: [www.bjournal.com.br]
 49. Munck A, Berger DO, Southern KW, Carducci C, de Winter-de Groot KM, Gartner S, et al. European survey of newborn bloodspot screening for CF: opportunity to address challenges and improve performance. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2022;

50. Krulišová V, Balašèaková M, Skalická V, Piskáèková T, Holubová A, Paděrová J, et al. Prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in the Czech Republic: IRT/DNA/IRT versus IRT/PAP and IRT/PAP/DNA. Vol. 171, *European Journal of Pediatrics*. 2012. p. 1223–9.
51. Seror V, Cao C, Roussey M, Giorgi R. PAP assays in newborn screening for cystic fibrosis: A population-based cost-effectiveness study. *J Med Screen*. 2016 Jun 1;23(2):62–9.
52. Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, Kohlmüller D, Leible S, Feneberg R, et al. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population. *J Inher Metab Dis*. 2010;33:263–71.
53. Zeyda M, Schanzer A, Basek P, Bauer V, Eber E, Ellemunter H, et al. Cystic Fibrosis Newborn Screening in Austria Using PAP and the Numeric Product of PAP and IRT Concentrations as Second-Tier Parameters. 2021;11:299.
54. Marcão A, Barreto C, Pereira L, Vaz LG, Cavaco J, Casimiro A, et al. Cystic fibrosis newborn screening in Portugal: PAP value in populations with stringent rules for genetic studies. *Int J Neonatal Screen*. 2018 Sep 1;4(3):22.
55. Sommerburg O, Krulisova V, Hammermann J, Lindner M, Stahl M, Muckenthaler M, et al. Comparison of different IRT-PAP protocols to screen newborns for cystic fibrosis in three central European populations. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2014. Cited [2023 november 16] ;13(1):15–23. Available from: [<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2013.06.003>]
56. Teper A, Smithuis F, Rodríguez V, Salvaggio O, Maccallini G, Aranda C, et al. Comparison between two newborn screening strategies for cystic fibrosis in Argentina: IRT/IRT versus IRT/PAP. *Pediatr Pulmonol*. 2021 Jan 1;56(1):113–9.
57. Vernooij-Van Langen AMM, Loeber JG, Elvers B, Triepels RH, Roefs J, Gille JJ, et al. The influence of sex, gestational age, birth weight, blood transfusion, and timing of the heel prick on the pancreatitis-associated protein concentration in newborn screening for cystic fibrosis. *J Inher Metab Dis*. 2013 Jan;36(1):147–54.
58. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev*. 2016 Dec 5;5:1–10.
59. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Annals of Internal Medicine* [Internet].

2011. Cited [2023 april 24] ;155(8):529–36. Available from: [www.annals.org]
60. Whiting P, Rutjes A, Dinnes J, Reitsma JB, Bossuyt P, Kleijnen J. Development and validation of methods for assessing the quality of diagnostic accuracy studies. *Health Technology Assessment*. 2004;8(25).
 61. Weidler S, Stopsack KH, Hammermann J, Sommerburg O, Mall MA, Hoffmann GF, et al. A product of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein as second-tier strategy in cystic fibrosis newborn screening. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2016;15(6):752–8.
 62. Bianchimani C, Dolce D, Centrone C, Campana S, Ravenni N, Orioli T, et al. Impact of Pancreatitis-Associated Protein on Newborn Screening Outcomes and Detection of CFTR-Related Metabolic Syndrome (CRMS)/Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID): A Monocentric Prospective Pilot Experience. *Int J Neonatal Screen* [Internet]. 2022. Cited [2023 october 24] ;8(3):46. Available from: [https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L2019208156&from=export]
 63. Sommerburg O, Stahl M, Hammermann J, Okun JG, Kulozik A, Hoffmann G, et al. Newborn Screening on Cystic Fibrosis in Germany: Comparison of the new Screening Protocol with an Alternative Protocol. *Klin Padiatr* [Internet]. 2017. Cited [2023 november 16] ;229(2):59–60. Available from: [https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L615647418&from=export]
 64. Schmidt M, Werbrouck A, Verhaeghe N, Wachter E De, Simoens S, Annemans L, et al. A model-based economic evaluation of four newborn screening strategies for cystic fibrosis in Flanders, Belgium. *Acta Clin Belg* [Internet]. 2019. Cited [2023 october 24] ;75(3):212–20. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31007159/]
 65. Nshimyumukiza L, Bois A, Daigneault P, Lands L, Laberge AM, Fournier D, et al. Cost effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis: A simulation study. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2014. Cited [2023 november 16] ;13(3):267–74. Available from: [https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L52861561&from=export]
 66. Southern KW, Munck A, Pollitt R, Travert G, Zanolla L, Dankert-Roelse J, et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2007 Jan;6(1):57–65.
 67. Pecellín ID, Gallego MEQ, Vallellano JM, Bodineau JLLC, Ríos AIÁ, Valera MJM, et al. Papel de la proteína asociada a pancreatitis en el cribado neonatal de la fibrosis quística. *Revista española de patología torácica* [Internet]. 2022. Cited [2023 november 16] ;34(2):98–104. Available from: [https://www.rev-esp-patol-

- torac.com/resumen_articulo.php?id=292&idarticulo=1724%0Ahttps://www.rev-esp-patol-torac.com/files/publicaciones/Revistas/2022/34.2/Original 2.pdf]
68. Pecellín ID, Pérez Ruiz E, Álvarez Ríos AI, Delgado Pecellín C, Yahyaoui Macías R, Carrasco Hernández L, et al. Results of the Andalusian Cystic Fibrosis Neonatal Screening Program, 5 Years After Implementation. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2018. Cited [2023 november 16] ;54(11):551–8. Available from: [https://doi.org/10.1016/j.arbres.2018.03.013]
 69. Sadik I, de Algaba IP, Jiménez R, Benito C, Blasco-Alonso J, Caro P, et al. Initial evaluation of prospective and parallel assessments of cystic fibrosis newborn screening protocols in eastern Andalusia: IRT/IRT versus IRT/PAP/IRT. *Int J Neonatal Screen*. 2019 Sep 3;5(3).
 70. Calvin J, Hogg SL, McShane D, McAuley SA, Iles R, Ross-Russell R, et al. Thirty-years of screening for cystic fibrosis in East Anglia. *Arch Dis Child*. 2012;97(12):1043–7.
 71. Sarles J, Giorgi R, Berthézène P, Munck A, Cheillan D, Dagorn JC, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: Comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2014;13(4):384–90.
 72. Sommerburg O, Stahl M, Hämmerling S, Gramer G, Muckenthaler MU, Okun J, et al. Final results of the southwest German pilot study on cystic fibrosis newborn screening – Evaluation of an IRT/PAP protocol with IRT-dependent safety net. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2022. Cited [2023 october 24] ;21(3):422–33. Available from: [https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L2015506509&from=export]
 73. Sommerburg O, Hammermann J, Lindner M, Stahl M, Muckenthaler M, Kohlmüller D, et al. Five years of experience with biochemical cystic fibrosis newborn screening based on IRT/PAP in Germany. *Pediatr Pulmonol* [Internet]. 2015. Cited [2023 october 24] ;50(7):655–64. Available from: [https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L604482948&from=export]
 74. Winter T, Müller C, Schmidt S, Nauck M. 3 Jahre Mukoviszidose-Screening für Neugeborene in Mecklenburg-Vorpommern: Ein Erfahrungsbericht für die bundesweite Einführung. *Monatsschr Kinderheilkd*. 2016;164(7):591–7.
 75. Langen AMMV, Loeber JG, Elvers B, Triepels RH, Gille JJP, Ploeg CPB Van Der, et al. Novel strategies in newborn screening for cystic fibrosis: A prospective controlled study. *Thorax* [Internet]. 2012. Cited [2023 october 24] ;67(4):289–95. Available from:

[<https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L51829823&from=export>]

76. Sontag MK, Hammond KB, Zielenski J, Wagener JS, Accurso FJ. Two-tiered immunoreactive trypsinogen-based newborn screening for cystic fibrosis in Colorado: Screening efficacy and diagnostic outcomes. *Journal of Pediatrics*. 2005;147(3):S83–8.
77. Barben J, Castellani C, Dankert-Roelse J, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2017 Mar 1;16(2):207–13.
78. Bizjak T, Kontić D, Kontić B. Practical Opportunities to Improve the Impact of Health Risk Assessment on Environmental and Public Health Decisions. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(7):4200.
79. Brownson RC, Fielding JE, Maylahn CM. Evidence-based public health: A fundamental concept for public health practice. *Annu Rev Public Health*. 2009;30:175–201.
80. la Marca G, Carling RS, Moat SJ, Yahyaoui R, Ranieri E, Bonham JR, et al. Current State and Innovations in Newborn Screening: Continuing to Do Good and Avoid Harm. *Int J Neonatal Screen*. 2023;9(1):1–14.
81. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. Vol. 8, *Journal of Cystic Fibrosis*. 2009. p. 153–73.
82. James PM, Levy HL. The clinical aspects of newborn screening: Importance of newborn screening follow-up. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2006;12(4):246–54.
83. Gibbs WW. Lost Science in the 3rd-World. *Sci Am*. 1995;273(2):92–9.
84. Salager-Meyer F. Scientific publishing in developing countries: Challenges for the future. *J Engl Acad Purp*. 2008;7(2):121–32.