

Use of monoclonal faecal elastase-1 concentration for pancreatic status assessment in cystic fibrosis patients

Utilidade da concentração da elastase-1 fecal monoclonal na avaliação da função pancreática nos pacientes com fibrose cística

Andréa C. S. Gonzales¹, Sandra M. G. Vieira², Rafael L. Maurer³,
Fernando A. A. e Silva⁴, Themis R. Silveira⁵

Resumo

Objetivo: Avaliar a concentração da elastase-1 (EL-1) fecal em pacientes pediátricos com fibrose cística, portadores da mutação $\Delta F508$.

Métodos: Estudo transversal com amostras colhidas consecutivamente de 51 pacientes com idade entre 4 meses e 17 anos (média $9,11 \pm 4,74$), sendo 32 (62,8%) pacientes do sexo masculino. Houve coleta de dados clínico-demográficos e do tipo de mutação. A insuficiência pancreática exócrina foi definida pela atividade da EL-1 fecal $< 200 \mu\text{g/g}$. A quantificação da EL-1 foi realizada pelo método ELISA monoclonal (ScheBo Biotech AG, Germany). A suplementação pancreática foi utilizada em 46 (90,2%) pacientes.

Resultados: Quarenta e um (80,4%) pacientes apresentaram insuficiência pancreática (EL-1 fecal $< 100 \mu\text{g/g}$), sendo 17 (41,5%) homozigotos, 14 heterozigotos (34,1%) e 10 sem $\Delta F508$ (24,4%). Ao considerar a mutação, houve associação estatisticamente significativa entre os homozigotos e a concentração da EL-1 fecal $< 100 \mu\text{g/g}$ ($p = 0,010$). Todos os pacientes considerados insuficientes pancreáticos ($n = 41$) pelo teste utilizavam suplemento pancreático. Dez (19,6%) apresentavam EL-1 fecal $> 200 \mu\text{g/g}$, e 5/10 (50%) utilizavam enzimas.

Conclusões: A atividade de EL-1 fecal $< 100 \mu\text{g/g}$, indicativa de insuficiência pancreática, apresentou-se em 17/17 (100%) dos homozigotos, conforme o esperado, sendo menos frequente nos heterozigotos para $\Delta F508$ e nos pacientes com ausência dessa mutação. Não houve relação entre a concentração da EL-1 fecal com idade e sexo dos pacientes. O teste foi padronizado, é de fácil execução e poderá ser utilizado para avaliação da função pancreática dos pacientes com fibrose cística.

J Pediatr (Rio J). 2011;87(2):157-162. Elastase-1 fecal, $\Delta F508$, insuficiência pancreática exócrina, fibrose cística.

Introdução

A fibrose cística (FC) é a doença genética potencialmente fatal mais comum que acomete a população caucasóide¹. É caracterizada por doença pulmonar obstrutiva crônica,

Abstract

Objective: To assess the concentration of faecal elastase-1 (EL-1) in pediatric patients with cystic fibrosis with mutation $\Delta F508$.

Methods: Cross-sectional study with samples collected consecutively from 51 patients aged 4 months to 17 years old (mean 9.11 ± 4.74); 32 (62.8%) patients were male. Clinical-demographic data were collected, as well as data on the type of mutation. Exocrine pancreatic insufficiency was established by the activity of faecal EL-1 $< 200 \mu\text{g/g}$. EL-1 was quantified through the monoclonal ELISA method (ScheBo Biotech AG, Germany). Pancreatic supplements were used in 46 (90.2%) patients.

Results: Forty-one (80.4%) patients presented with pancreatic insufficiency (EL-1 fecal $< 100 \mu\text{g/g}$): 17 (41.5%) were homozygous, 14 were heterozygous (34.1%) and 10 were non- $\Delta F508$ (24.4%). Regarding the mutation, there was a statistically significant association of homozygosity with faecal EL-1 concentration $< 100 \mu\text{g/g}$ ($p = 0.010$). All patients considered to be pancreatic insufficient ($n = 41$) by the test were using pancreatic supplements. Ten (19.6%) presented faecal EL-1 $> 200 \mu\text{g/g}$, and 5/10 (50%) used enzymes.

Conclusions: The activity of faecal EL-1 $< 100 \mu\text{g/g}$, indicating pancreatic insufficiency, was observed in 17/17 (100%) of homozygous patients, as expected, and was less frequent in patients who were heterozygous for $\Delta F508$ and in patients without the mutation. There was no association of faecal EL-1 concentration with age and sex of patients. The test was standardized, is easy to execute, and can be used to assess the pancreatic status of patients with cystic fibrosis.

J Pediatr (Rio J). 2011;87(2):157-162. Faecal elastase-1, $\Delta F508$, exocrine pancreatic insufficiency, cystic fibrosis.

ileo meconial, insuficiência pancreática exócrina e elevadas concentrações de eletrólitos no suor². O diagnóstico é feito através do teste do suor (método Gibson-Cooke), em que os

1. Nutricionista. Mestranda, Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.
2. Doutora. Gastropediatria, Serviço de Pediatria, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), UFRGS, Porto Alegre, RS.
3. Mestre, Biologia. Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia, Centro de Pesquisas, HCPA, UFRGS, Porto Alegre, RS.
4. Doutor. Professor adjunto, Departamento de Pediatria e Puericultura, UFRGS, Porto Alegre, RS.
5. Doutora. Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia, Centro de Pesquisas, HCPA, Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Apoio financeiro: FIPE.

Como citar este artigo: Gonzales AC, Vieira SM, Maurer RL, e Silva FA, Silveira TR. Use of monoclonal faecal elastase-1 concentration for pancreatic status assessment in cystic fibrosis patients. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87(2):157-162.

Artigo submetido em 16.08.10, aceito em 15.12.10.

doi:10.2223/JPED.2075

valores de cloro < 40 mmol/L são considerados normais e valores \geq 60 mmol/L são alterados³. O teste do suor deverá ser repetido para confirmação do diagnóstico de FC⁴. No estudo recente de Mattar et al.⁵, os autores compararam o teste clássico de Gibson-Cooke e o teste da condutividade no suor em pacientes com e sem FC e observaram que o teste da condutividade foi equivalente ao teste clássico, concluindo que houve uma boa correspondência entre os mesmos.

Na FC, há uma perda progressiva da função pancreática exócrina devido à obstrução dos ductos intrapancreáticos por secreção mucosa, levando à retenção de enzimas digestivas e formando um processo inflamatório crônico com fibrose e consequente perda da função pancreática⁶. É aceito que, entre as diversas manifestações da FC, o fenótipo pancreático é o que melhor se relaciona ao genótipo, como atestam os estudos de Kerem et al.⁷ e Zielenski⁸. Segundo Iwánczak et al.⁹, existe uma nítida correlação entre a presença da mutação Δ F508 e a gravidade e frequência das manifestações digestivas. De acordo com a literatura, aproximadamente 15% dos pacientes com FC são suficientes pancreáticos (SP)¹⁰⁻¹², embora Messick¹³ relate que todos pacientes com FC apresentam algum grau de insuficiência pancreática (IP). A avaliação da função pancreática exócrina é um procedimento obrigatório ao diagnóstico, visando determinar a necessidade de suplementos enzimáticos.

Há um grande número de testes de avaliação de função pancreática exócrina, a maioria dos quais de utilização limitada, seja pelo alto custo, seja pela disponibilidade baixa e/ou inconveniente de coletar fezes por período prolongado. A medida da elastase-1 (EL-1) fecal tem mostrado-se promissora e isso é demonstrado pelos resultados que revelam sensibilidade de 90-100% e especificidade de 96-100% como indicadores de insuficiência pancreática exócrina¹⁴⁻¹⁶.

Os objetivos deste estudo foram avaliar e quantificar a concentração da EL-1 fecal em pacientes com FC, portadores da mutação Δ F508, e comparar os valores de EL-1 fecal em pacientes com FC portadores de mutação Δ F508 com os sem a mutação.

Casística e métodos

Foi realizado um estudo transversal com pacientes portadores de FC de ambos os sexos, com idade entre 4 meses e 17 anos, em acompanhamento no setor de pneumologia pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre (RS). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição e foi realizado entre setembro de 2007 e novembro de 2008. A coleta de amostras foi consecutiva, e os 51 indivíduos analisados representaram aproximadamente 34% dos pacientes portadores de FC em acompanhamento no setor.

Os critérios de elegibilidade para o estudo foram os seguintes: a) Pacientes portadores de FC de ambos os sexos, com idades entre 1 mês e 18 anos, em acompanhamento no setor de pneumologia pediátrica do HCPA; b) Presença de FC, com diagnóstico confirmado através de dois testes de dosagem de sódio e cloreto no suor ou pela presença de duas mutações associadas ao diagnóstico clínico.

Foram fatores de exclusão deste estudo: pacientes em uso de medicamentos para regularização do hábito intestinal; pacientes com presença de enterostomia/colostomia; fezes líquidas por três ou mais vezes ao dia, nas duas semanas precedentes ao exame; e não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Os dados foram coletados durante a internação e/ou acompanhamento ambulatorial de rotina dos pacientes com FC. A rotina de seguimento no ambulatório de pneumologia pediátrica do HCPA inclui consultas com a equipe médica a cada 2 meses e *check-up* anual que inclui exames complementares. Para a realização deste estudo, foram convidados os pacientes que frequentam o ambulatório por ocasião do *check-up* anual, os dados demográficos foram obtidos do prontuário e a dose de suplemento pancreático foi informada pelos responsáveis do paciente. No momento da obtenção do consentimento pelos responsáveis, foi entregue o frasco para a coleta de fezes.

A análise da mutação para FC foi realizada no Serviço de Genética Médica do HCPA, sendo realizada a pesquisa das seguintes mutações Δ F508, G542X, R553X, G551D e N1303K. Foi utilizado o método de sequenciamento de DNA ou PCR em tempo real (método padronizado no serviço de Genética do HCPA).

As fezes coletadas foram armazenadas no Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia, em geladeira, na temperatura de -20°C , até a realização dos testes. Conforme orientação do fabricante (ScheBo Biotech AG, Germany), o material assim estocado pode ser armazenado por um prazo de até 1 ano.

Foi feita a quantificação da EL-1 fecal utilizando-se o método ELISA sanduíche monoclonal, que usa dois anticorpos monoclonais contra diferentes epítopos da elastase pancreática humana. Usou-se como ponto de corte o valor 200 $\mu\text{g/g}$, classificando como suficiente pancreático pacientes cujos valores estavam acima de 200 $\mu\text{g/g}$ e como insuficiente pancreático, pacientes com valores abaixo de 200 $\mu\text{g/g}$ da EL-1 fecal. Valores entre 100 e 200 $\mu\text{g/g}$ foram considerados com probabilidade de IP moderada, enquanto valores abaixo de 100 $\mu\text{g/g}$, com IP grave, conforme orientação do fabricante. Foram analisadas 81 amostras de fezes de 51 pacientes. Trinta alíquotas foram duplicadas de 10 pacientes de cada grupo.

Análise estatística

Foi feito cálculo do tamanho da amostra para detectar uma diferença de 1 desvio padrão entre os níveis de elastase fecal nos 3 grupos de pacientes estudados (grupo 1: pacientes homocigotos para mutação Δ F508; grupo 2: pacientes heterocigotos para mutação Δ F508; grupo 3: pacientes com ausência da mutação Δ F508), considerando $\alpha = 0,05$, poder de 80%. Foi estabelecido um número mínimo de 17 pacientes em cada grupo.

As variáveis quantitativas foram descritas através da média e desvio padrão (distribuição simétrica) ou mediana e amplitude de variação/amplitude interquartilica (distribuição assimétrica). As variáveis qualitativas foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

Para avaliar a associação entre as variáveis qualitativas, foi aplicado o teste qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas contínuas, em relação à insuficiência pancreática, foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância adotado foi de 5%, e as análises foram realizadas no programa SPSS, versão 13.0.

Resultados

Participaram do estudo 51 pacientes com diagnóstico de FC acompanhados na internação e no ambulatório de pneumologia pediátrica do HCPA. A amostra foi constituída de três grupos: G1 = 17 pacientes homozigoto para mutação $\Delta F508$; G2 = 17 pacientes heterozigotos para mutação $\Delta F508$; e G3 = 17 pacientes com ausência da mutação $\Delta F508$.

Houve predominância de 62,7% (n = 32) do sexo masculino. A idade dos pacientes variou entre 4 meses e 17 anos, com média de 9,11 anos ($\pm 4,74$ anos).

Os pacientes internados representaram 88,2% (45/51) da amostra estudada, enquanto 11,7% (6/51) eram ambulatoriais. Os motivos da internação foram: *check-up* anual de rotina (25/51:55,5%); exacerbação pulmonar (10/51:22,2%); febre (6/51:13,3%); baixo peso (3/51:6,7%); e crise de asma (1/51:2,2%). A mediana de dias de internação foi de 19, variando de 11 a 65 dias.

A terapia de reposição enzimática foi instituída em 46 (90,2%) pacientes. De acordo com informações dos responsáveis, a mediana de utilização da enzima administrada foi de 5.346,88 unidades de lipase por kg/dia (510-15.652). Entre os diferentes grupos de pacientes, não houve diferença significativa na dose de enzima por kg/dia (teste de Kruskal-Wallis; $p = 0,457$).

Houve 10/51 (19,6%) pacientes com concentrações de EL-1 fecal acima de 200 $\mu\text{g/g}$, sendo considerados SP. Em 41/51 (80,4%), o teste de EL-1 fecal apresentou valores abaixo de 100 $\mu\text{g/g}$ e os pacientes foram considerados com IP. Não houve pacientes com valores de EL-1 fecal entre 100 e 200 $\mu\text{g/g}$ (Figura 1).

Em relação aos pacientes SP, 3/10 (30%) eram heterozigotos para $\Delta F508$, e 7/10 (70%) pacientes não apresentavam a mutação $\Delta F508$, seja em homozigose ou heterozigose. No que se refere à amostra de pacientes com IP, 17/41 (41,5%) eram homozigotos para a mutação $\Delta F508$, 14/41 (34,1%) eram heterozigotos para $\Delta F508$, e 10/41 pacientes (24,4%) não apresentavam a mutação $\Delta F508$.

Houve associação estatisticamente significativa entre a mutação $\Delta F508$ e a concentração da EL-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$ (Tabela 1). Todos os homozigotos para $\Delta F508$ (17/17) apresentaram IP intensa. O grupo heterozigoto para $\Delta F508$ apresentou proporções semelhantes de concentrações de EL-1 fecal.

Como pode ser observado na Tabela 1, todos os pacientes com concentração de EL-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$ utilizavam enzimas. Dos 10 pacientes considerados suficientes pelo teste de EL-1 fecal, 5 (50%) faziam terapia de reposição

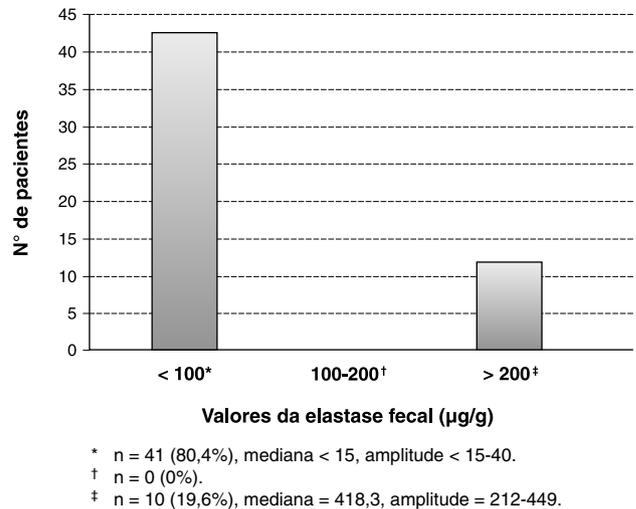


Figura 1 - Valores da elastase fecal categorizados em três faixas na população em estudo

enzimática. A dose enzimática por kg/dia foi similar entre os grupos com concentração de EL-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$ e > 200 $\mu\text{g/g}$, como pode ser visto na Figura 2. Não houve relação entre o sexo e a faixa etária com a concentração da EL-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$ (Tabela 1).

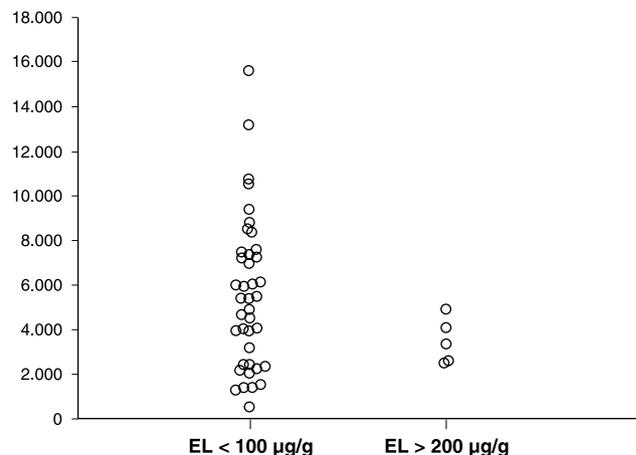


Figura 2 - Quantidade (u) de lipase kg/dia em pacientes com concentração de elastase-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$ e > 200 $\mu\text{g/g}$

Discussão

A EL-1 foi inicialmente isolada por Mallory & Travis¹⁷, em 1975, e foi originalmente denominada protease E. A EL-1 é uma protease digestiva humana específica, sintetizada nas células acinares e secretada no duodeno, através do ducto pancreático. A EL-1 é sintetizada como zimogênio e a enzima madura tem peso molecular de 28 kDa¹⁸. Durante o trânsito

Tabela 1 - Relação entre idade, sexo e mutação $\Delta F508$ com a concentração da elastase

Variáveis	Insuficiência pancreática n (%)*		p
	Intensa (EL < 100 µg/g) n = 41	Ausente (EL > 200 µg/g) n = 10	
Sexo			
Masculino	26 (63,4)	6 (60,0)	1,000 [†]
Feminino	15 (36,6)	4 (40,0)	
Faixa etária			
< 2 anos	5 (12,2)	2 (20,0)	0,474 [‡]
2-9 anos	15 (36,6)	5 (50,0)	
10-17 anos	21 (51,2)	3 (30,0)	
Mutação ($\Delta F508$)			
Homozigoto	17 (41,5)	0 (0,0)	0,010 [‡]
Heterozigoto	14 (34,1)	3 (30,0)	
Ausente	10 (24,4)	7 (70,0)	
Terapia de reposição enzimática			
Sim	41 (100,0)	5 (50,0)	0,001 [†]
Não	0 (0,0)	5 (50,0)	
Unidades de lipase por kg/dia (mediana)	5.427,1 (510-15.652)	3.381,1 (2.520-4.932,0)	0,280 [§]

EL = elastase.

* Não há valores para insuficiência pancreática moderada (100 < EL < 200 µg/g) (n = 0).

† Teste exato de Fisher.

‡ Teste qui-quadrado de Pearson.

§ Teste de Mann-Whitney.

intestinal, a EL-1 liga-se principalmente a sais biliares e, em contraste com outras enzimas pancreáticas, não é degradada durante a passagem pelo intestino¹⁹.

A medida dessa enzima proteolítica nas fezes é feita através de um teste ELISA, com ampla aceitação em laboratórios clínicos¹¹. A EL-1 fecal é considerada mais sensível e específica do que outros testes de uso corrente na detecção de insuficiência pancreática exócrina²⁰. Weintraub et al.¹², em seu estudo de correlação entre testes de função pancreática exócrina em pacientes com FC suficientes pancreáticos, consideram a EL-1 fecal como um teste de pouco valor para esses pacientes, sugerindo que o coeficiente de gordura fecal tem um melhor desempenho. No consenso europeu de 2010 sobre tratamento precoce de crianças com diagnóstico de FC após triagem neonatal, os autores sugerem que, no momento do diagnóstico, as crianças devam ter a função pancreática avaliada pela EL-1 fecal. E se esses pacientes apresentarem a EL-1 fecal dentro da normalidade no momento do diagnóstico, é essencial que sejam feitas várias avaliações durante o primeiro ano de vida²¹.

O teste ELISA utiliza dois anticorpos monoclonais obrigatórios, especificamente para diferentes epítomos na EL-1 humana¹⁴. São inúmeras as vantagens da medida dessa enzima: é estável em uma ampla gama de pH e temperatura e as amostras de fezes podem ser recolhidas e transportadas sem preparação especial^{10,22}. Também pode ser armazenada por até uma semana em temperatura ambiente, durante um

mês em temperatura de 4 a -22 °C, por período prolongado¹⁹. O exame pode ter utilidade também no rastreamento precoce da conversão de um paciente SP para uma situação de insuficiência, podendo ser monitorado anualmente, uma vez que o aparecimento de má absorção é precedido por declínio na concentração de elastase^{20,23}. O teste também serve para identificar a capacidade residual do estado pancreático¹⁰. O anticorpo monoclonal contra a elastase humana não reage com as enzimas suínas, ou seja, é espécie-específica, assim o teste pode ser feito enquanto os pacientes estão fazendo a terapia de reposição enzimática^{10,22}.

A amostra do presente estudo foi constituída na totalidade de pacientes caucasóides. Houve discreta predominância do sexo masculino, como já observado em casuísticas anteriores^{14,16}.

No que se refere à faixa etária, a média de idade dos pacientes foi de 9,11±4,74 anos. Classificando os pacientes nos 3 grupos, de acordo com a presença da mutação, a média de idade entre os homozigotos foi de 9,10±4,82, entre os heterozigotos de 8,72±5,32, e entre os com ausência de $\Delta F508$ foi de 9,52±4,28. Sete (14%) pacientes eram menores de 2 anos. Não houve relação entre idade e a maior ou menor concentração de EL-1 fecal. A EL-1 fecal tem sido relacionada à idade apenas nas primeiras semanas de vida. Baixos valores foram encontrados em recém-nascidos prematuros e a termo. Von Seebach & Henker²⁴ analisaram fezes de 28 crianças nascidas pré-termo e de 27 crianças a termo

e observaram um valor médio de EL-1 fecal de 63,9 µg/g no mecônio, que aumentou gradualmente para 200 µg/g em 1 mês, independente da idade gestacional. Assim, a EL-1 fecal é baixa nas primeiras semanas de vida de crianças não portadoras de FC e subirá aos níveis normais em lactentes SP. Na presente investigação, nos pacientes em idade escolar na faixa dos 10 aos 17 anos, predominou o grupo de concentração de EL-1 fecal < 100 µg/g. Foram encontradas cinco (12,5%) crianças menores de 2 anos com concentração de EL-1 fecal < 100 µg/g. Walkowiak et al.²⁵ encontraram em sua casuística que 100% (27/27) dos pacientes apresentavam IP aos 12 meses de idade.

No presente estudo, 90,2% (46/51) dos pacientes considerados clinicamente IP faziam corretamente o uso de enzimas pancreáticas. No entanto, cinco (10,8%) pacientes, com idade de 8 meses a 10 anos e que utilizavam enzimas, apresentaram EL-1 fecal acima de 200 µg/g, o que configura SP. Borowitz et al.²⁶ estudaram 1.215 indivíduos de 33 locais credenciados na Cystic Fibrosis Foundation Registry de Nova Iorque (EUA) pelo período de 6 meses. A média de idade dos pacientes foi 13,5 anos, variando de 1 mês a 64 anos. Fazia parte do estudo a suspensão das enzimas pancreáticas na dependência do resultado do teste da EL-1 fecal > 200 µg/g, exceto para os indivíduos que apresentaram pancreatite. A EL-1 fecal estava < 200 µg/g em 1.074 (88,4%) indivíduos, 1.050 recebiam enzimas pancreáticas e 24 não recebiam enzimas. Esses 24 pacientes, portanto, foram incorretamente classificados em relação ao estado funcional do pâncreas. A concentração EL-1 fecal foi de > 200 µg/g em 141 (11,6%) indivíduos. Sessenta (42,5%) não faziam terapia de reposição enzimática e foram classificados corretamente como SP, mas 81 (57%) utilizavam enzimas pancreáticas sem aparente necessidade. Houve interrupção da terapia de reposição enzimática de 67/81 indivíduos que nunca tinham apresentado pancreatite. Somente 23 (34,3%) concordaram em recolher fezes para balanço de gordura fecal e mediram coeficiente de absorção de gordura (CAG) após 1 mês de interrupção de enzimas com média de 96,1% de CAG. Anterior a esse estudo, 181/1.215 dos indivíduos nunca tinham realizado um teste objetivo para verificação da função pancreática. A hipótese dos autores de que um número apreciável de pacientes com FC estavam classificados erroneamente foi confirmada pelo teste da EL-1 fecal.

No presente estudo, 80,4% (41/51) dos pacientes nos quais havia suspeita de IP apresentaram níveis de EL-1 fecal abaixo de 100 µg/g, assim como no estudo de Galvão et al.²⁷, em que a EL-1 fecal revelou IP grave na maioria dos casos. Na nossa amostra, 78% (40 /51) dos pacientes estavam com EL-1 abaixo de 15 µg/g (limite inferior da detecção do ensaio). Como já descrito por Meyts et al.²³, 76% (19/25) dos pacientes estudados apresentaram valores muito baixos. Resultados similares foram observados por Phillips et al.¹⁸, em que a concentração da EL-1 fecal dos pacientes com FC homocigotos para ΔF508 (15/15) estava abaixo de 15 µg/g (limite inferior do ensaio). Cade et al.²⁰ estudaram 142 crianças com FC, sendo 93 homocigotos para ΔF508, 38 heterocigotos para ΔF508 e 11 não ΔF508. Somente sete pacientes apresentaram-se SP pelo teste. A mediana de EL-1 fecal dos pacientes com IP foi de 10 µg/g. Houve

diferenças estatisticamente significativas entre os valores da EL dos pacientes com IP e SP ($p = 0,0001$), pacientes com IP e grupo-controle ($p < 0,0001$), mas não houve diferença entre os SP e grupo-controle. Os valores da mediana da EL dos homocigotos e heterocigotos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,62$). No presente estudo, 17 pacientes homocigotos para ΔF508 apresentaram concentração de EL-1 fecal abaixo de 100 µg/g. O mesmo não ocorreu em relação aos pacientes heterocigotos. Esses resultados estão de acordo com a literatura geral em que os pacientes homocigotos para ΔF508 apresentam maior relação com IP que os heterocigotos e os não ΔF508^{7,11}. Este estudo apresentou mediana de EL-1 fecal entre os grupos com valores muito baixo (< 15 µg/g), semelhante ao estudo de Cade et al.²⁰, que relata mediana de 10 µg/g entre os pacientes com IP.

Durie et al.²⁸, em estudo sobre testes de função pancreática para pacientes com FC, relatam alguns critérios a serem observados para que o teste seja satisfatório. Nas listas a seguir, incorporamos esses critérios em relação à EL-1 fecal e acrescentamos aspectos negativos do teste.

A) Pontos negativos:

- A concentração da EL é modificada em presença de lesão intestinal²⁹ e flora intestinal alterada³⁰.
- A interpretação deve ser cuidadosa em fezes diarréicas³⁰.
- Incapacidade de distinguir a IP primária da secundária¹¹.
- Avalia apenas a IP endógena¹¹.

B) Pontos positivos:

- Boa correlação entre o teste secretina-pancreozimina²⁶.
- Não é degradada no trânsito intestinal¹⁹.
- Espécime de fácil obtenção²⁶.
- Sem armazenamento especial²⁶.
- Boa aceitação dos pacientes²⁶.
- Fácil execução¹⁰.
- Não invasivo¹⁹.
- Baixo custo¹⁰.
- Não reage com as enzimas suínas²⁶.

Uma limitação do presente estudo é a ausência de comparação com um teste padrão áureo. Na presente pesquisa, não foi possível avaliar o coeficiente de variação (CV) intraensaio do teste dos pacientes que apresentaram concentração de EL-1 fecal reduzida (< 200 µg/g), pois os valores das alíquotas estavam abaixo do limite inferior do ensaio (15 µg/g). Meyts et al.²³ demonstraram que o CV intraensaio, baseado em duplicatas, apresentou baixa variabilidade com valores aproximados de apenas 4,06%. Assim como Cade et al.²⁰ demonstraram em seu estudo que o CV interensaio e intraensaio são baixos. Os autores mediram os CV da EL-1 fecal em pacientes com FC e encontraram valores de 7,0% (intraensaio) e de 7,2% (interensaio).

A EL-1 fecal é um teste indireto, exato e reprodutível da função pancreática cujos valores são confiáveis em uma pequena amostra de fezes.

Agradecimentos

Às Dras. Elenara Andrade Procianoy, Maria Luiza Saraiva Pereira e Joíza Lins Camargo, à nutricionista Lovaine Rodrigues e a Álvaro Laureano pela colaboração neste trabalho. Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do HCPA por apoiar este projeto.

Referências

1. Rock MJ. *Newborn screening for cystic fibrosis*. *Clin Chest Med*. 2007;28:297-305.
2. Damasceno N, Reis FJ. *Fibrose Cística*. *J Pediatr (Rio J)*. 1998;74: S76-S94
3. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. *Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report*. *J Pediatr*. 2008;153:S4-S14.
4. Davis PB. *Cystic fibrosis since 1938*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:475-82.
5. Mattar AC, Gomes EN, Adde FV, Leone C, Rodrigues JC. *Comparison between classic Gibson and Cooke technique and sweat conductivity test in patients with and without cystic fibrosis*. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86:109-14.
6. Abreu e Silva FA, Palombini BC. *Fibrose Cística (mucoviscosidade)*. In: Corrêa da Silva, LC. *Compêndio de Pneumologia*. 2. ed. São Paulo: BYK; 1991. p. 977-84.
7. Kerem E, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, et al. *The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis - analysis of the most common mutation (delta F508)*. *N Engl J Med*. 1990;323:1517-22.
8. Zielenki J. *Genotype and Phenotype in Cystic Fibrosis*. *Respiration*. 2000;67:117-33.
9. Iwańczak F, Smigiel R, Stawarski A, Pawłowicz J, Stembalska A, Mowszet K, et al. *Genotype and phenotype of gastrointestinal symptoms analysis in children with cystic fibrosis*. *Pol Merkur Lekarski*. 2005;18:205-9.
10. Cohen JR, Schall JJ, Ittenbach RF, Zemel BS, Stallings VA. *Fecal elastase: pancreatic status verification and influence on nutritional status in children with cystic fibrosis*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:438-44.
11. Daftary A, Acton J, Heubi J, Amin R. *Fecal elastase-1: utility in pancreatic function in cystic fibrosis*. *J Cyst Fibros*. 2006;5:71-6.
12. Weintraub A, Blau H, Mussaffi H, Picard E, Bentur L, Kerem E, et al. *Exocrine pancreatic function testing in patients with cystic fibrosis and pancreatic sufficiency: a correlation study*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;48:306-10.
13. Messick J. *A 21st-century approach to cystic fibrosis: optimizing outcomes across the disease spectrum*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;51 Suppl 7:S1-7.
14. Gullo L, Graziano L, Babbini S, Battistini A, Lazzari R, Pezzilli R. *Faecal elastase 1 in children with cystic fibrosis*. *Eur J Pediatr*. 1997;156:770-2.
15. Soldan W, Henker J, Sprössig C. *Sensitivity and specificity of quantitative determination of pancreatic elastase 1 in feces of children*. *J Pediatric Gastroenterol Nutr*. 1997;24:53-5.
16. Walkowiak J. *Faecal elastase-1: clinical value in the assessment of exocrine pancreatic function in children*. *Eur J Pediatr*. 2000;159:869-70.
17. Mallory PA, Travis J. *Human pancreatic enzymes: purification and characterization of a none lastolytic enzyme, protease E. resembling elastase*. *Biochemistry*. 1975;14:722-30.
18. Phillips IJ, Rowe DJ, Dewar P, Connett GJ. *Faecal elastase 1: a marker of exocrine pancreatic insufficiency in cystic fibrosis*. *Ann Clin Biochem*. 1999;36:739-42.
19. Loser C, Mollgaard A, Folsch UR. *Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test*. *Gut*. 1996;39:580-6.
20. Cade A, Walters MP, McGinley N, Firth J, Brownlee KG, Conway SP, et al. *Evaluation of fecal pancreatic elastase-1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis*. *Pediatric Pulmonol*. 2000;29:172-6.
21. Sermet-Gaudelus I, Mayell SJ, Southern KW. *Guidelines on the early management of infants diagnosed with cystic fibrosis following newborn screening*. *J Cyst Fibros*. 2010;9:323-9.
22. Borowitz D, Lin R, Baker SS. *Comparison of monoclonal and polyclonal ELISAs for fecal elastase in patients with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;44:219-23.
23. Meyts I, Wuyts W, Proesmans M, De Boeck K. *Variability of fecal pancreatic elastase measurements in cystic fibrosis patients*. *J Cyst Fibros*. 2002;1:265-8.
24. Von Seebach K, Henker J. *Pancreatic elastase 1 in faeces of preterm and term born infants up to 12 months without insufficiency of exocrine pancreatic function [Abstract]*. 21st European Cystic Fibrosis Conference. Davos, Switzerland, 1997.
25. Walkowiak J, Sands D, Nowakowska A, Piotrowski R, Zybert K, Herzing KH, et al. *Early decline of pancreatic function in cystic fibrosis patients with class 1 or 2 CFTR mutations*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:199-201.
26. Borowitz D, Baker SS, Duffy L, Baker RD, Fitzpatrick L, Gyamfi J, et al. *Use of fecal elastase-1 to classify pancreatic status in patients with cystic fibrosis*. *J Pediatr*. 2004;145:322-6.
27. Galvão LC, Ribeiro A, Rodrigues AA, Fernandes MM, Bertuzzo C. *Evaluation of the Delta F508 mutation and of pancreatic insufficiency by the fecal elastase test and of some clinical characteristics of children and adolescents with cystic fibrosis [poster section abstract PO815]*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;39:s367. [2nd World Congress of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Paris 2004 July 3-7].
28. Durie PR, Gaskin KJ, Corey M, Kopelman H, Weizman Z, Forstner GG. *Pancreatic function testing in cystic fibrosis*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984;3 Suppl 1:S89-98.
29. Nousia-Arvanitakis S. *Fecal elastase-1 concentration: an indirect test of exocrine pancreatic function and a marker of an enteropathy regardless of cause*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003;36:314-5.
30. Masoero G, Zaffino C, Laudi C, Lombardo L, Rocca R, Gallo L, et al. *Fecal pancreatic elastase 1 in the work up of patients with chronic diarrhea*. *Int J Pancreatol*. 2000;28:175-9.

Correspondência:
 Andréa C. S. Gonzales
 Laboratório Experimental de Hepatologia e
 Gastroenterologia, HCPA
 Rua Ramiro Barcellos, 2350
 CEP 90035-903 – Porto Alegre, RS
 Tel.: (51) 3359.8847
 Fax: (51) 3359.8761
 E-mail: andreacongzaes@yahoo.com.br