

VALORES NORMALES DE LA PRUEBA SUDAN III EN NIÑOS SANOS MENORES DE UN AÑO DE EDAD

Evila Dávila de Campagnaro (*), Yoleida Jáuregui (**),
Ana Aparicio (***), Danuil Lobo (****).

Recepción: 15/9/2011
Aceptación: 15/3/2012

RESUMEN.

La esteatorrea es la pérdida de grasa en las heces. Se manifiesta clínicamente con heces fétidas, grasosas y abundantes. Se puede determinar por el método Van de Kamer, el esteatocrito acidificado y la tinción sudan III en heces. El objetivo del presente trabajo es precisar el valor normal de la prueba Sudan III en heces.

Material y Métodos. Se incluyeron las muestras de heces de 2000 niños sanos (recién nacidos pre- término, recién nacidos a término, lactantes de 1-4 meses y de 5-12 meses de edad) ,500 muestras por grupo. Se realizó en el Hospital Universitario de los Andes, en Mérida-Venezuela, durante los años 1999-2009. En la prueba se utilizó la tinción sudan III y el reactivo de Saathoff, con lente microscópico de 40 y se tomaron en cuenta las gotas grandes y medianas de grasa por campo. Es una investigación clínica con enfoque epidemiológico, observacional de tipo aleatoria.

Resultados. Del total de niños 53% fueron varones y 47% niñas. El promedio de evacuaciones por día fue de 3 en los recién nacidos, de 2 a 3 en los lactantes menores de 4 meses y de 1 a 2 en los de 5 a 12 meses de edad. El valor normal de la prueba Sudan III en heces varía dependiendo de la edad. En RN pre-término un promedio de 5.4 gotas (12-0 gotas)de grasa por campo, en RN a término 7.9 gotas (16-0), en lactantes menores de 4 meses de edad 4.3 gotas (10-0) y en los lactantes de 5-12 meses 3.8 gotas(6-0) de grasa por campo.

Conclusiones. La prueba Sudan III orienta en el diagnóstico de esteatorrea en niños, en pacientes con mala absorción intestinal y en la evaluación del uso de enzimas pancreáticas. Es una técnica sencilla, económica y fácil de realizar. El conocer los valores normales dependiendo de la edad pediátrica permite al médico tratante plantear la existencia de esteatorrea patológica.

Palabras claves: esteatorrea, prueba Sudan III en heces.

NORMAL RANGE FOR SUDAN III TEST IN UNDER CHILDREN UNDER ONE YEAR OF AGE.

SUMMARY.

Steatorrhea is the loss of fat through the stools. It becomes clinically apparent with the presence of increased amounts of foul and fatty stools. It can be determined through the Van de Kamer method, the acid steatocrit and the Sudan III stain test of stools. The objective of this paper is to specify the normal value of the Sudan III Stain Test of stools.

Methods. 2000 healthy children stools samples were included. Age groups were preterm's, newborns, and infants between 1-4 and 5-12 months of age. 500 samples were collected for every group. The study was performed at the Hospital Universitario de los Andes, in Mérida- Venezuela, during years 1999 through 2009. The Sudan III Stain Test and the Saathoff reactive were employed, as well as a high power objective lens. The number of large and medium fat drops by field was considered for the classification. This is a prospective, observational, randomized clinical trial.

Results. For the total number of children (53% males and 47% females) the average of evacuations per day showed a total of 3 times in the newborns, from 2 to 3 times in the infants between 1-4 months of age and from 1 to 2 times in the infants between 5 and 12 months of age. The normal value of the Sudan III Stain Test of stools varies according to age: in preterm newborns this test shows an average of 5,4 drops (12-0) of fat per field, in full term newborns 7,9 drops (16-0), in infants from 0 to 4 months 4,3 drops (10-0) and in infants between 5 and 12 months 3,8 drops (6-0) of fat per field.

Conclusion. Sudan III Stain Test guides in the diagnosis of steatorrhea in children, in patients with intestinal malabsorption syndrome and in the evaluation of the indication of pancreatic enzymes. This is a cheap, simple and easy technique .To know the normal values in the different pediatric age groups, allows to establish the presence of steatorrhea.

INTRODUCCION

La esteatorrea es un término utilizado para definir la pérdida de grasa en las heces y es una evidencia absoluta de mala-absorción intestinal. La digestión de las grasas tiene dos fases, la lipólisis y la formación de micelas; la fase de lipólisis puede alterarse por enfermedades pancreáticas y la formación de mi-

celas por una reducción de los ácidos biliares a nivel del duodeno (1). El Síndrome de mala-absorción intestinal incluye tanto a la esteatorrea como al trastorno de absorción de disacáridos como la lactosa, debido a la atrofia de vellosidades intestinales por infecciones como la giardiasis y por rotavirus, así como debida al síndrome post enteritis (diarrea que persiste más de 10 días, con daño intestinal y se acompaña de mala-absorción de azúcares y de grasas), entre otras causas (2). Los niños con esteatorrea presentan heces voluminosas, mal olientes, grasosas, con promedio de dos a tres evacuaciones por día, con pérdida de peso ó peso estacionario, compromiso del estado general, con astenia, adinamia, flatulencias e hipoproteí-nemia en algunos casos; presentándose en entidades clínicas como la fibrosis quística, el síndrome de sobre crecimiento bacteriano y la enfermedad celíaca (3).

Existen estudios paraclínicos para precisar la esteatorrea en el niño, como el Sudan III en heces, el esteatocrito y el método de Van de Kamer. La tinción Sudan III en heces es

- (*) Pediatra Gastroenterólogo, profesor titular del Departamento de Puericultura y Pediatría de la Universidad de los Andes (ULA).
(**) Cirujano Infantil, Adjunto del Servicio de Cirugía Infantil del Hospital Universitario de los Andes (HULA).
(***) Bioanalista del Laboratorio de Perinatología del HULA.
(****) Médico Pediatra egresado del Postgrado de Puericultura y Pediatría de la ULA.

Trabajo Premiado con el Tercer Premio a Trabajo de Investigación modalidad Poster. LVII Congreso Venezolano de Pediatría, Maracaibo 2012.

Correspondencia:
Dávila de Campagnaro Evila.
Celular:04147489333. Correo: evila_davila@hotmail.com

una prueba cualitativa que detecta las grasas en forma de gotas de color naranja (4) y el método de Van de Kamer las detecta en forma cuantitativa, recolectando las heces durante 72 horas (5). Otras pruebas mediante análisis gravimétrico, técnicas de espectroscopía y espectrometría (6) y estudios más especializados como el clearance alfa 1-antitripsina son utilizados para determinar esteatorrea; este último es específico para pacientes con enfermedad pancreática (7). La prueba Sudan III en heces se ha implementado en adultos con esteatorrea pero no se conocen los valores en pacientes pediátricos, incluyendo recién nacidos.

El objetivo del presente trabajo es precisar el valor normal de la tinción Sudan III en heces, en niños sanos menores de un año de edad y así poder orientar al médico tratante en su interpretación.

MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Hospital Universitario de los Andes (HULA), en Mérida-Venezuela, durante el período enero 1999 a diciembre 2009. Se incluyeron las muestras de heces de niños sanos menores de un año de edad, atendidos en el Servicio de neonatología (retén de niño sano), en la Consulta de gastroenterología infantil y en áreas de atención hospitalaria y ambulatoria, distribuidos en cuatro grupos (500 muestras por grupo), de la siguiente forma:

- Grupo A: recién nacidos pre-término.
- Grupo B: recién nacidos a término.
- Grupo C: lactantes entre 1 a 4 meses de edad.
- Grupo D: lactantes entre 5 a 12 meses de edad.

Se incluyeron tanto recién nacidos pre-término como de término ya que los valores de la prueba Sudán III no se conocen en este grupo etario.

La tinción Sudán III es una prueba de laboratorio para precisar la existencia ó no de esteatorrea (pérdida de grasa en las heces), determinando en forma cualitativa la pérdida de grasas tanto neutras como libres en las heces; es una prueba rápida, económica y fácil de realizar. La técnica utilizada consistió en colocar sobre una lámina porta-objeto un gramo de heces, agregándole 2 gotas de reactivo Saathoff, mezclándolo homogéneamente y cubriéndolo con una lámina cubre-objetos 24x50. Se flamea y se deja enfriar, se observa con el microscopio de luz tipo Reichert biovar binocular, enfocando con el lente de 10 inicialmente y observando con el lente de 40. Las gotas de grasa se identifican de color naranja, tomando en cuenta sólo la presencia de las gotas medianas y grandes. El criterio de normalidad utilizado para el reporte de las gotas de grasa en las heces fue el siguiente:

- Gotas de grasa grandes:
no más de tres gotas de grasa por campo,
- Gotas de grasa medianas:
no más de 10 gotas de grasa por campo.

Las gotas grandes de grasa tienen un tamaño aproximado de 90 milimicras y las gotas medianas entre 25 y 30 milimi-

cras (8). El reactivo de Saathoff contiene: Sudan III 2 grs, alcohol 96° 10 ml y ácido acético glacial 90 ml. Otros autores (9) utilizan alcohol de 70°.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: niños con síndrome diarreico, pacientes con patología quirúrgica, con dolor abdominal agudo ó crónico, hemorragia digestiva, enterocolitis necrotizante,

Se indagaron aspectos epidemiológicos y clínicos de estos niños, entre ellos el tipo de alimentación, edad de ablactación y el número de evacuaciones por día. Al recolectar la muestra de heces, no se permitía la aplicación de cremas ni aceites en la región perianal, se tomaban las muestras de heces en el Laboratorio de Perinatología, mediante estímulo anal con un termómetro rectal y así poder evitar la contaminación con la orina.

Este trabajo es una investigación clínica con enfoque epidemiológico, observacional de tipo aleatorio; la información obtenida se analizó con técnicas de estadística descriptiva y de inferencia estadística como análisis de varianza, análisis de medias, prueba de impedancia. El procesamiento estadístico de los datos se realizó con un programa SOSS for Windows 7.0.

RESULTADOS.

Del total de los 2000 niños, 1060 (53%) eran varones y 940 (47%) del género femenino; 560 niños (28%) recibieron lactancia materna exclusiva por 4 meses, 740 (37%) lactancia materna complementaria, 400 (22%) solo fórmula infantil y 260 (13%) leche completa antes de los 4 meses de edad. De los 1000 lactantes, la ablactación la cumplieron a los 4 meses de edad 640 niños (64%) y 360 (36%) a los 6 meses de edad.

Al observar el número de evacuaciones por día dependiendo de la edad, encontramos que los recién nacidos tanto pre-término como de término tenían un promedio de 3 evacuaciones por día y los lactantes de 1 a 4 meses de edad entre 2 y 3 evacuaciones y los lactantes entre 5 y 12 meses de edad entre 1 y 2 evacuaciones por día.

Al cuantificar las gotas de grasa (grandes y medianas) según el grupo etario, evidenciamos en recién nacidos pre-término un promedio de 5.4 gotas de grasa por campo, en los recién nacidos a término 7.9 gotas de grasa, en los lactantes < de 4 meses de edad 4.3 gotas y en los lactantes > de 5 meses 3.8 gotas de grasa por campo (ver Cuadro 1).

En el Cuadro 1 observamos que a menor edad del niño mayor número de gotas de grasa por campo, así en los recién nacidos pre-término más de 12 gotas de grasa se considera patológico, en los recién nacidos de término más de 16 gotas y en los lactantes de 1 a 4 meses y de 5 a 12 meses de edad más de 10 y 6 gotas de grasa, respectivamente.

Al evaluar los valores estadísticos como el promedio, máximo y mínimo de gotas de grasa por campo, la media, el índice de confianza 95%, la desviación estándar, observamos que la media del número de gotas de grasa por campo es de

Cuadro 1. VALORES NORMALES DE LA TINCION SUDAN III EN HECES. VARIABLES ESTADISTICAS.

GRUPOS ETARIOS.	VARIABLES ESTADISTICAS.				
	Máximo y mínimo de gotas.		Media	IC 95%	Desviación Estándar
RN pre-término	12	0	54.231	(4.644-6.201)	27.900
RN a término	16	0	79.688	(6.554-9.383)	0.6934
Lactantes 1-4 meses	10	0	43.846	(2.666-6.100)	0.7889
Lactantes 5-12 meses	6	0	38.000	(1.958-5.617)	0.6663

5.4 gotas en los recién nacidos pre-término, 7.9 gotas en los recién nacidos a término, 4.3 gotas en los lactantes menores de 4 meses de edad y 3.8 gotas en los lactantes de 5 a 12 meses de edad (ver Cuadro 1). De esta forma planteamos, que los valores normales de la tinción Sudán III en heces varían dependiendo del grupo etario.

DISCUSION

La prueba Sudan III en heces permite determinar la presencia de grasa no absorbida en las heces, debido a un cuadro de mala digestión o de mala absorción intestinal, en pacientes con esteatorrea debida a diversas enfermedades como la enfermedad celiaca, la cual se manifiesta clínicamente con diarrea, distensión abdominal, desnutrición, entre otros síntomas (10), la fibrosis quística por presentar desnutrición, mala absorción de grasas, pancreatitis recurrente junto a manifestaciones respiratorias (11), e inclusive en las parasitosis que presentan síndrome de malabsorción intestinal (12). Esta técnica de laboratorio se realiza según el método clásico, originalmente descrito por Drummey (4), se basa en el principio de que la grasa dietética debe hidrolizarse a ácidos grasos libres y glicerol antes de su absorción. Su objetivo fundamental es determinar la presencia de esteatorrea, pero ayuda en la evaluación de pacientes con bajo peso ó clínica sugestiva de síndrome de mala absorción intestinal e inclusive para seguir el tratamiento de reemplazo con enzimas pancreáticas.

La técnica implementada para la prueba Sudan III se puede realizar con ó sin acidificación. Sin acidificación detecta grasas neutras (grasas intactas) y con acidificación detecta ácidos grasos ó grasas hidrolizadas.

Se realizó la prueba Sudan III sin acidificación porque permite visualizar las gotas de grasa color naranja, lo cual indica incapacidad de hidrolizar la grasa dietética por insuficiencia pancreática ó micelización deficiente. Se desconocen los valores normales de la prueba Sudan III en recién nacidos y lactantes menores, de allí la importancia de la presente investigación. Al cuantificar las gotas de grasa, tomamos en cuenta las gotas grandes y medianas ya que las pequeñas y diminutas son consideradas normales (esteatorrea fisiológica).

El resultado de la prueba Sudan III se expresa de acuerdo al número y diámetro de las gotas de grasa visualizadas en la lámina, si se usa un lente 400 de aumento, los valores son:

Prueba negativa: menor ó igual a 100 gotas de grasa por campo, entre 1-4 micras de diámetro

Prueba positiva leve: más de 100 gotas de grasa por campo, entre 1-8 micras de diámetro

Y positiva franca: más de 100 gotas de grasa, entre 6-75 micras de diámetro (13).

Nosotros usamos un lente de 40 de aumento en el microscopio, por lo tanto los valores encontrados difieren de los valores anteriores.

Planteando que existe esteatorrea si los recién nacidos tienen más de 8 gotas de grasa por campo y en los lactantes mayores de 4 meses de edad más de 5 gotas de grasa por campo. Otras pruebas diagnosticas de esteatorrea son el método de Van de kamer (5), el cual requiere recolectar las heces durante 72 horas, luego de seis días con una dieta rica en grasas y el esteatocrito acidificado, el cual se realiza con una muestra simple de heces, en pacientes con dieta habitual, teniendo esta última prueba excelente correlación con el método de Van de kamer.

Sugai y colaboradores(14) utilizaron el esteatocrito como método semicuantitativo para determinar el contenido de grasas en heces en 148 muestras fecales encontrando una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo en 87%, 97%, 97% y 87%, respectivamente, tomando en cuenta que la sensibilidad se incrementa si consideran esteatorrea más de 20 gramos de grasa en las heces por día. Otros investigadores (15) implementaron tanto el método cuantitativo (técnica de 72 horas) y el método cualitativo (esteatocrito acidificado) observando en éste ultimo método una sensibilidad del 100%.

Comparando el método van de kamer, el cual consiste en el análisis químico cuantitativo exacto de la pérdida de grasa fecal total, la sensibilidad y especificidad de la prueba Sudan III varía en las publicaciones revisadas (16), así tenemos que Drummey (4) evidenció una sensibilidad del 97.3% y una especificidad del 86.4%, respectivamente; al pasar las décadas han implementado pruebas diferentes como la elastasa fecal orientadora de la función pancreática exocrina (17).

Otros autores (18); aseguran que la prueba Sudan III en heces permite una absorción del 94% de la grasa ingerida.

Para el año 2000, Kenneth y colaboradores (19) intentaron modificar la técnica del Sudan III ideada por Drummey, modificando el método haciéndolo cuantitativo y no cualitativo, ya que les parecía que la especificidad de la prueba era baja (86,4%), usaron un microscopio con lente 400 y observaron las gotas de grasa separadas por diámetros desde 5 milimicras a 80 milimicras (5,10,20,de 21 a 40 de 41 a 80 y de

mayor tamaño) y analizando las heces el primero, segundo y el tercer día, consiguiendo mejorar la especificidad al 99 con un sensibilidad del 77%.

La examinación microscópica de la grasa en las heces es un proceso de laboratorio, fácil de realizar y usado como screening para determinar esteatorrea. El análisis cuantitativo es aceptado como método diagnóstico de mala absorción de grasas, pero la recolección de las heces es una técnica difícil. En el año 1986, Sevá-Pereira y colaboradores (20) estudiaron 299 adultos y 201 niños, con método cuantitativo de tres días de recolección de heces y demostraron que la evaluación microscópica cualitativa es altamente comparable con el método cuantitativo, pero sugieren la examinación microscópica en dos oportunidades.

Podemos concluir que la prueba Sudan III en heces es una prueba de tamizaje, bastante confiable para descartar esteatorrea en la mayoría de los casos. Sugerimos solicitar esta prueba en varias oportunidades para minimizar el efecto de sezzo, que podría tener la dieta del paciente en el resultado de la prueba.

REFERENCIAS

- 1.- Arguelles F, Arguelles F, Garcia M, Ramirez F. Defectos selectivos de absorción intestinal. Hidratos de carbono, proteínas y grasas. En: Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica. Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. 2da. Edición. Editorial Ergón. Madrid. 2008; pp 159-166.
- 2.- Amigo M, Molina J. Clínica y diagnóstico de la gastroenteritis aguda. En: Alvarez G, Mota F, Manrique I. Editores. Gastroenteritis aguda en Pediatría. Editorial Ferrer grupo. Barcelona, España. 2005; pp 55-59.
- 3.- Girard Y, Campagnaro E. Enfoque terapéutico de la enfermedad diarreica en pediatría. En: Jimenez M, Lacruz M. Editores. Manual de Urgencias Pediátricas. Universidad de los Andes. Consejo de Publicaciones. 2010; pp: 19-32.
- 4.- Drummey G, Benson J, Jones C. Microscopical examination of the stool for steatorrhea. N Engl J Med 1961; 264: 85-87.
- 5.- Van de Kamer J, Ten Bokkel Huinink H, Weijers H. Rapid method for the determination of fat in feces. J Biol Chem 1949; 177: 347-355.
- 6.- Lembcke B, Braden B, Stein J. Diagnosis of steatorrhea. Gastroenterol 1994; 32(5): 256-261.
- 7.- Bai J, Sugai E, Morán C, Sambuelli A, Vásquez H, Mazure R, et al. Fecal alpha 1- antitrypsin Clearance in the differential diagnosis of steatorrhea. Acta Gastroenterol Latinoam 1992; 22 (2): 95-98.
- 8.- Fine K, Ogunji F. A new method of quantitative fecal fat microscopy and its correlation with chemically measured fecal fat output. Am J Clin Pathol 2000; 113: 528-34.
- 9.- Diaz Portillo J, Fernández del Barrio M, Paredes Salido F. Aspectos Básicos de Bioquímica Clínica. Ediciones Díaz de Santos. Madrid-España. 1997. Pag.234.
- 10.- Zawahir S, Safta A, Fasano A. Pediatric Celiac disease. Curr Opin Pediatr 2009; 21: 655-660.
- 11.- Montgomery G, Howenstine M. Cystic Fibrosis. Pediatrics in Review 2009; 30: 302-310.
- 12.- Behera B, Mirdha B, Makharia G, Bhatnagar S, Dattagupta S, Samantaray J. Parasites in patients with malabsorption syndrome. A clinical study in children and adults. Digestive Diseases and Sciences 2008; 53:672-679.
- 13.- Khouri M, Huang G, Shiao Y. Sudan Stain of fecal fat: New Insight into an Old Test. Gastroenterology 1989;96 (2): 421-27.
- 14.- Sugai E, Srur G, Vasquez H, Benito F, Mauriño E, Boerr L, et al. Steatocrit a reliable semiquantitative method for detection of steatorrhea. J Clin Gastroenterol 1994; 19 (3): 206-209.
- 15.- Amann S, Josephson S, Toskes P. Acid Steatocrit: a simple, rapid gravimetric method to determine steatorrhea. Am J Gastroenterol 1997; 92(12):2280-84.
- 16.- Ghosh S, Littewood J, Goddard D. Stool microscopy in screening for steatorrhea. J Clin Pathol 1977; 30: 749-53.
- 17.- Walkowiak J. Faecal elastase-1: Clinical value in the assessment of exocrine pancreatic function in children. Eur J Ped 2000; 159: 869-70.
- 18.- Maranhao H, Wehba J. Steatocrit and Sudan III in the study of steatorrhea in children: comparison with the van de Kamer method. Arq Gastroenterol 1995; 32 (3): 140-145.
- 19.- Kenneth F, Frederick O. A New Method of Quantitative Fecal Fat Microscopy and Its Correlation with Chemically Measured Fecal Fat Output. Am J Clin Pathol 2000; 113: 528-34.
- 20.- Sevá-Pereira A, Berenhi P, de Magalhaes A. Qualitative microscopic evaluation of fecal fats. Comparative study. Arq Gastroenterol 1986; 23 (2):95-98.