Comparación entre diversos métodos para diagnóstico rápido de malabsorción de hidratos de carbono *

DR. ERNESTO GUIRALDES C. **.

La alta frecuencia con que la malabsorción de lactosa y otros azúcares se presenta en el curso de las diarreas infantiles (1-12), hace necesario que el clínico disponga de métodos rápidos y simples para la detección de tales alteraciones. En la literatura, habitualmente se mencionan métodos que, por ser muy laboriosos o implicar gastos considerables, no están al alcance de quienes trabajan en muchos de nuestros hospitales que ofrecen altísima incidencia de diarreas infantiles y escasez de medios de laboratorio. Por ejemplo, la determinación de ácido láctico en deposiciones de 24 horas (13, 14) es un examen muy preciso pero largo y engorroso. La cromatografía de azúcares (14, 15) tiene la ventaja de poder determinar cualitativamente los azúcares no absorbidos, pero su empleo rutinario no está al alcance de nuestros laboratorios. Por otra parte, existe una serie de técnicas más simples que las mencionadas, que aunque siendo en ocasiones menos sensibles que éstas, tienen el mérito de poner al alcance del clínico una herramienta rápida y eficaz para la pesquisa de la malabsorción de azúcares. Entre estos métodos se puede citar: el pH fecal (14) y las reacciones basadas en la presencia de sustancias reductoras en deposiciones: Clinitest (16), Benedict (12) y Fehling (8).

Recientemente, un estudio efectuado por Soriano y cols. (8) en el Hospital Roberto del Río, demostró la aplicabilidad de la reacción de Fehling en la detección de la intolerancia a disacáridos en lactantes con diarrea. Si bien la sensibilidad de dicha prueba es inferior a la medición del ácido láctico fecal de 24 horas, resulta ser superior a la determinación aislada del pH de las deposiciones. Su gran ventaja radica en la posibilidad

de ser usada como examen de "screening", debido a las cualidades antes enumeradas.

El propósito del presente estudio consiste en comparar tres métodos que detectan la presencia de sustancias reductoras en deposiciones: Clinitest *, Benedict y Fehling entre sí, y también con la determinación simultánea del pH fecal.

MATERIAL Y MÉTODOS. Todos los exámenes descritos se llevaron a cabo en deposiciones frescas, recolectadas a través de sonda o de otras técnicas que evitaban el contacto de las heces con la ropa del paciente.

En 254 muestras de deposiciones provenientes de 175 pacientes con diarrea (la inmensa mayoría de ellos lactantes), se realizó simultáneamente la reacción de Benedict y la medición del pH fecal. En 36 de las muestras citadas se llevó a cabo además la reacción de Clinitest y en 159 casos también se determinó Fehling. El Clinitest debió restringirse principalmente a los casos dudosos ya que se disponía de una cantidad limitada de tabletas. Se le asignó un papel de patrón, dado que tanto su sensibilidad como su especificidad han sido universalmente aceptadas como muy altas. El empleo de esta prueba se ha extendido considerablemente y ha sido suficientemente validada en la literatura (1, 3, 6, 7, 9-12, 14-19) como para usarla de test de referencia frente a otros menos empleados o de menor sensibilidad.

Los pacientes cuyas deposiciones fueron evaluadas en este estudio estaban recibiendo, o fórmulas lácteas del Hospital o bien, en algunos casos mezclas sin leche, por haberse diagnosticado previamente en ellos una intolerancia a lactosa.

Reacciones: a) Clinitest: Se llevó a cabo por el método descrito por Kerry y Anderson (16)

* Trabajo presentado a las Cuartas Jornadas anuales de la Sociedad Chilena de Pediatría, Valdivia, Octubre de 1974.

** Departamento de Pediatría, Sede Oriente, Universidad de Chile, Hospital "Luis Calvo Mackenna".

* Clinitest: Laboratorio Ames.

que usa 1 tableta de Clinitest más quince gotas de una mezcla compuesta por 1 volumen de deposiciones líquidas y 2 volúmenes de agua destilada. Se consideró como positiva toda concentración de sustancias reductoras igual o superior a 0,25 grs. %, nivel que en esta reacción corresponde a "trazas".

COMPARACION ENTRE EXAMEN DE BENEDICT Y CLINITEST EN DEPOSICIONES

BENEDICT	POSITIVO (16)
	DUDOSO (7)
	NEGATIVO (13)
		NEGATIVO (28)	POSITIVO (16)
		CLINITEST	

Fig. Nº 1

b) Reacción de Benedict: Inicialmente debió validarse escogiendo entre dos métodos descritos en la literatura: uno que es el usado para análisis de orina (20) y que recomienda diluir un volumen de la sustancia en estudio en diez de reactivo de Benedict, y otro que describe Morley (12), en que la dilución es de aproximadamente 2 en 25. Ambas técnicas fueron comparadas con el examen de Clinitest y se observó que la segunda daba una correspondencia exacta con este examen, ya que a concentraciones semejantes de sustancias reductoras las lecturas eran comparables. En cambio la primera técnica no es exactamente equivalente al Clinitest ya que sobrestima levemente la concentración de sustancias reductoras, en relación a éste. Por consiguiente, el método adoptado para el presente estudio fue el preconizado por Morley. En nuestro caso la dilución 2 en 25 fue conseguida mezclando 0,2 ml. de deposiciones líquidas con 2,5 ml. de reactivo de Benedict en un tubo que luego se coloca durante 5 minutos en un baño en ebullición. Al color obtenido se le asigna una calificación semicuantitativa, que al igual que en el caso del Clinitest va desde (—) a (++++), pasando por "trazas". Cuando el color no podía ser adecuadamente identificado con los colores descritos en las tablas era catalogado como "dudoso". Generalmente estos casos correspondían a deposiciones intensamente teñidas de amarillo las cuales al mezclarse con el color azul del reactivo daban a la mezcla un tinte verdoso que hubiera podido ser tomado co-

mo positivo. Sin embargo, tras adquirir experiencia en este examen fue relativamente fácil el reconocer este tipo de error y separarlo de los verdaderos positivos, al punto que en las últimas etapas de este estudio no hubo resultados dudosos.

c) Reacción de Fehling: Es la misma que se describe para análisis de orina (20) y consiste en la mezcla de 1 volumen de deposiciones (en nuestro caso 0,5 ml.) con un volumen de reactivo de Fehling "A" y 1 volumen de reactivo de Fehling "B". A continuación, esta mezcla contenida en un tubo a prueba de calor se somete a la acción directa de la llama de un mechero, en tanto se agita constantemente. Una vez producida la ebullición se deja en reposo el tubo por un minuto y luego se lee el color resultante.

La reacción de Fehling sólo puede dar resultados en términos de "positivo", "negativo" y "dudoso", ya que carece de la calidad semicuantitativa presente en las dos reacciones antes descritas. Es más susceptible de dar resultados dudosos que la reacción de Benedict, ya que el color propio de la deposición tiene mayor influencia en la coloración final, al usarse en una proporción de 1:3, comparada con 1:12,5 en el caso del Benedict.

d) pH fecal: La medición del pH se efectuó dentro de la primera hora de recolectadas las deposiciones y para ello se usó la cinta "Merck" con escala de 1 a 10. Una misma persona realizó todas las lecturas, una vez que el método fue validado por lecturas simultáneas de dos o más observadores en una serie previa de muestras. Se expresó el pH en números enteros o en valores intermedios entre enteros (Ej.: 4 a 5, 5 a 6, etc.).

e) Influencia de la conservación de las deposiciones a temperaturas de congelación, sobre pH y sustancias reductoras.

En algunas muestras almacenadas en congelador se repitieron las determinaciones antes mencionadas a intervalos variables, comprobándose que incluso 9 días después de obtenidas, entregaban los mismos resultados que el primer día. No se hicieron mediciones más allá del 9º día.

RESULTADOS. La figura 1 señala los resultados obtenidos en 36 muestras que fueron analizadas simultáneamente según los métodos de Benedict, y Clinitest. En los 7 casos calificados como "dudosos" por el Benedict el resultado del Clinitest fue "negativo". Hubo correspondencia absoluta, sin embargo, en todos los casos catalogados como positivos y como negativos, por ambos exámenes. La reacción de Clinitest no dio resultados dudosos.

En la figura 2 se aprecia que, al comparar Fehling con Benedict se encuentra un mayor número de resultados dudosos en el primero de los exámenes mencionados. Asimismo, la sensibilidad del Fehling parece ser menor, ya que en 37

COMPARACION ENTRE BENEDICT Y FEHLING EN DEPOSICIONES

Fig. Nº 2

muestras positivas según Benedict los resultados del Fehling fueron semejantes sólo en 24 casos, dudosos en 4 y negativos en 9. Por esta razón el número de resultados totales catalogados como negativos según Fehling fue superior al obtenido con Benedict.

Una diferencia cualitativa importante entre Benedict y Fehling fue la dificultad, en el caso del Fehling, de lograr evitar los resultados dudosos, a medida que se avanzaba en el estudio. Tal desventaja, mucho más fácilmente subsanable con el examen de Benedict se debió a las razones ya explicadas en la sección "material y métodos".

Al comparar pH con Benedict (figura 3) se encontró que:

a) 52 muestras (20,4% del total) fueron positivas para sustancias reductoras (incluyendo trazas); 9 (3,7%) dieron resultados dudosos y 193 (75,9%) fueron negativas. Si en las negativas se incluye aquellas dudosas aclaradas con el examen de Clinitest, el porcentaje de deposiciones con sustancias reductoras dentro de límites normales se aproxima al 80% del total.

b) De las 52 muestras positivas, 43 (un 83,1%) presentaron un pH igual o menor de 5, en tanto que en sólo 9 (16,9%) el pH fue más alto. De estos 9 casos, tres correspondieron a recién nacidos y los otros seis a pacientes que habían recibido tratamiento antibiótico, especialmente Ampicilina.

c) Si se toma en cuenta las muestras cuyo pH fue igual o inferior a 5 (55 en total), hubo una alta concordancia con la presencia de sustancias reductoras positivas, ya que 44 (80%) de ellas tuvieron ambas propiedades y en sólo 11 (20%) hubo discordancia. En 5 de estos 11 casos, la repetición del examen, subsecuentemente con nue-

va muestra, entregó resultados positivos para sustancias reductoras.

En este trabajo todas las deposiciones compatibles con malabsorción de hidratos de carbono fueron de consistencia líquida.

DISCUSION. Los resultados obtenidos con el examen de Benedict y la medición de pH fecal son muy favorables en cuanto a detectar malabsorción de hidratos de carbono. Aun cuando el número de muestras comparado fue escaso, la correspondencia entre Benedict y Clinitest fue total para todos los casos calificados como positivos y como negativos por ambos exámenes. Los resultados dudosos fueron fácilmente corregidos por el uso de Clinitest y más adelante, por la experiencia adquirida en la ejecución del Benedict. En cambio, en la reacción de Fehling no fue posible en muchos casos subsanar esta dificultad debida a la aparición de colores ambiguos al final del examen. Otra desventaja del examen de Fehling fue su menor sensibilidad respecto a las otras dos pruebas ya citadas, lo que en varios casos produjo resultados falsos negativos. Esta desventaja

Relación entre pH fecal y sustancias reductoras en deposiciones

Figura Nº 3. Cada punto representa una muestra de deposiciones. Los rombos corresponden a muestras provenientes de recién nacidos; los círculos negros denotan aquellos exámenes que subsecuentemente re-evaluados demostraron presencia de sustancias reductoras en proporciones anormales.

del Fehling también se presenta al investigar sustancias reductoras en orina y ha llevado a su progresivo reemplazo por el Benedict en algunos laboratorios.

Las tres pruebas mencionadas basan su acción en el cambio de color del reactivo usado ante la presencia de determinadas concentraciones de sustancias reductoras en la muestra en estudio. Tanto en el caso de Benedict como de Clinitest, el límite inferior pesquisable es de 0,25 grs. de sustancias reductoras por 100 cc. de muestra.

En el examen de Fehling, este umbral presumiblemente es mayor dado que concentraciones "trazas", detectadas por Benedict y Clinitest no alcanzaron a serlo por Fehling y pasaron inadvertidas. Posiblemente una adaptación de la reacción de Fehling, usando una mayor proporción de deposiciones en la mezcla, podría subsanar esta baja sensibilidad pero traería aparejado un aumento de las heces en la coloración final.

Todos los monosacáridos y disacáridos, con excepción de la sacarosa (14, 16), tienen propiedades reductoras, por lo que su presencia en las deposiciones en proporciones anormales puede ser apreciada por los exámenes mencionados. En el caso de la intolerancia a lactosa, tanto ésta como sus monosacáridos constituyentes (producidos por desdoblamiento de lactosa bajo acción bacteriana en el colon), dan la reacción positiva (14, 16). Lo mismo sucede en la intolerancia a monosacáridos, ya que todos ellos tienen propiedades reductoras (14, 16). Para la intolerancia a sacarosa, en cambio, la situación no es tan clara, ya que este azúcar no reacciona como los anteriores si no es previamente hidrolizado con HCl. (14, 16). Pero la acción bacteriana en el colon es capaz de desdoblar cantidades variables de sacarosa hacia fructosa y glucosa, las cuales sí dan la reacción (16). Por tal motivo, cabe esperar que, en la medida en que ocurra degradación de la sacarosa en el colon, la intolerancia a este carbohidrato podrá ser pesquisada por los reactivos comentados en este trabajo, aunque para mayor seguridad, cada vez que se sospeche esta condición clínica, debiera hidrolizarse la mezcla de deposiciones previamente con HCl 1N.

El bajo pH fecal en la malabsorción de hidratos de carbono se debe a la fermentación parcial de éstos hacia ácidos orgánicos de bajo peso molecular (láctico y pirúvico), (14). Este es también un efecto de las bacterias sacarolíticas del colon, por lo que en ausencia de éstas tal acidez de las deposiciones no será encontrada aunque existan en ellas altas concentraciones de sustancias reductoras. En nuestra experiencia esto ocurre en recién nacidos, los cuales no han desarrollado plenamente aún su flora colónica, y en pacientes tratados con antibióticos por vía oral, hecho también descrito por otros (6). Por esta razón, si sólo se confía en el pH de las deposiciones

sin estudio simultáneo de la presencia de sustancias reductoras, se deja un porcentaje de casos (20% en nuestros resultados) erróneamente catalogados como negativos.

La explicación al hecho de que en algunas muestras hubiera pH ácido, pero azúcares reductores, aparece menos clara. Se puede suponer que en tales casos ha existido una fermentación completa de los carbohidratos no absorbidos (8) o bien que el azúcar predominante en las deposiciones ha sido la sacarosa. De todos modos este tipo de resultado debe ser considerado como presuntamente positivo hasta ser aclarado subsecuentemente.

Nuestros resultados referentes a correlación entre pH y sustancias reductoras difieren de los publicados por Soeparto y cols. (15) quienes encontraron una correspondencia relativamente baja entre ambas pruebas, la cual no es fácilmente explicable, salvo que en su grupo en estudio hubiera una alta proporción de pacientes recibiendo antibióticos, y por lo tanto eliminando deposiciones de pH alcalino pero con cantidades anormales de azúcares.

Lifshitz y cols. (6) en cambio, hacen notar que la presencia de carbohidratos en las heces tiene alta correlación con el pH, aunque ellos catalogan como positivas a todas las muestras con pH inferior a 6. Anderson y cols. (17), considerando como anormales sólo a aquellas deposiciones con pH inferior a 5,5, han informado también de una correlación positiva entre ambas características.

Nuestra línea divisoria de pH se encuentra claramente ubicada entre 5 y 5 a 6, semejante por lo tanto a lo descrito por estos últimos autores y algo diferente a lo informado por Lifshitz y cols.

Los exámenes descritos en este trabajo tienen un papel indiscutible en la investigación de las diarreas infantiles, especialmente en lactantes. Su sensibilidad puede ser algo menor que otras pruebas más elaboradas pero esto es compensado con-

TABLA Nº 1

SIGNIFICADO DE LOS RESULTADOS COMBINADOS DE PH Y SUSTANCIAS REDUCTORAS EN DEPOSICIONES CON RESPECTO A LA MALABSORCIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO

Subst. reductoras	pH.	
	5 o menos	Más de 5
(—)	Sospechoso	Negativo
Dudosas	Sospechoso	Dudoso
Trazas	Positivo	Sospechoso
(+) a (++++)	Positivo	Positivo

NOTA: Tanto los resultados sospechosos como los dudosos deben ser repetidos con una nueva muestra.

creces por su simpleza y rapidez de ejecución, por lo que el clínico no debiera vacilar en usarlos cada vez que sea necesario. La ventaja principal de Benedict frente a Fehling reside en su mayor sensibilidad y menor frecuencia de resultados ambiguos. Clinitest es más eficaz aún en los aspectos nombrados y no requiere de instalaciones de laboratorio pudiendo ser hecho "a la cabecera del enfermo", pero tiene la desventaja relativa de su mayor costo.

Finalmente, la conducta a seguir frente a los resultados entregados por estos tres exámenes más el pH fecal debiera prevenir de una cuidadosa interpretación de ellos. La tabla 1 presenta las distintas posibilidades que pueden ocurrir. Los casos sospechosos o dudosos debieran ser reevaluados o, de no ser posible, ser considerados como presuntamente positivos y tratados como tales.

RESUMEN

Se estudió la eficacia de tres métodos rápidos para detectar malabsorción de hidratos de carbono, a saber: Benedict, Fehling y pH fecal. Los casos dudosos encontrados fueron resueltos con el uso de un cuarto método; Clinitest, de alta sensibilidad y universalmente empleado.

Se encontró que el examen de Benedict posee una sensibilidad algo mayor que la del Fehling y que es susceptible de entregar menos resultados dudosos que este último. Los contados casos en que el resultado puede catalogarse como dudoso, según Benedict, son corregibles en la medida en que mejora la pericia del experimentador.

Con respecto a pH fecal, si se aceptan valores inferiores a 5,5 como sugerentes de malabsorción de carbohidratos, se encuentra que hay una correlación de un 80% con la presencia de sustancias reductoras en deposiciones a concentraciones superiores a 0,25 grs.% (medidas por Benedict). Los casos discordantes, que muestran pH superior a 5,5 y sustancias reductoras positivas generalmente corresponden a recién nacidos o a pacientes con tratamiento antibiótico por vía oral. El caso contrario, es decir pH inferior a 5,5 y sustancias reductoras positivas generalmente corresponden a recién nacidos o a pacientes con tratamiento antibiótico por vía oral. El caso contrario, es decir pH inferior a 5,5 y sustancias reductoras no detectables debe ser objeto de ulterior seguimiento ya que suelen aparecer las sustancias reductoras en exámenes subsecuentes.

Se concluye en que la utilidad de algunos exámenes simples usados para detectar presencia de carbohidratos no absorbidos en las heces —o de sus productos de fermentación—, se confirma por este estudio. Se insiste en la necesidad de reevaluar cualquier caso dudoso.

SUMMARY

The comparative value of simple screening tests used for diagnosing sugar intolerance in infancy was studied. Reducing substances were assessed in fresh samples of stools from infants with diarrhea by means of: Benedict test, Fehling test and Clinitest, the latter one being employed for solving ambiguous results. Fecal pH was determined with the Merck paper-strip. It was found that Benedict had a higher sensitivity than Fehling and yielded less dubious results than the latter. Low stool pH correlated in a 80% with the presence of excess reducing substances although sugar-intolerant infants receiving oral antibiotics tended to have alkaline stools. Samples with low pH in which reducing substances were not found underwent subsequent re-evaluation and in most cases reducing substances did appear when a new sample was assayed.

It is concluded that the above mentioned methods are useful as screening tests whenever sugar malabsorption is suspected in infancy. They are simple and inexpensive which make them especially suitable for paediatric hospitals where laboratory facilities are scarce.

REFERENCIAS

- 1.—Burke V., Kerry K. R. y Anderson C. M.: "The relationship of dietary lactose to refractory diarrhoea in infancy". Aust. Paediat. J. 1: 147, 1965.
- 2.—Bowie M. D., Brinkman G. L. y Hansen J. D. L.: "Acquired disaccharide intolerance in malnutrition". J. Pediat. 66: 1083, 1965.
- 3.—Burke V. y Anderson C. M.: "Sugar intolerance as a cause of protracted diarrhoea following surgery of the gastrointestinal tract in neonates". Aust. Paediat. J. 2: 219, 1966.
- 4.—Wharton B., Howells G. y Phillip I.: "Diarrhoea in Kwashiorkor". Brit. Med. J. 4: 608, 1968.
- 5.—Danús O., Urbina A. M., Soriano H., Guerrero F., Macaya J., Campos C. y Fernández M. E.: "Intolerancia a lactosa en el Síndrome diarreico agudo del lactante". Pediatría (Santiago) 13: 51, 1970.
- 6.—Lifshitz F., Coello-Ramírez P., Gutiérrez-Topete G. y Cornado-Cornet M. A.: "Carbohydrate intolerance in infants with diarrhea". J. Pediat. 79: 760, 1971.
- 7.—Bates R., Walker-Smith J. A. y Stobo E. A.: "Sugar malabsorption in infants and toddlers": Review of a two-year experience". Aust. Paediat. J. 8: 217, 1972.

- 8.— Soriano H., Macaya J., Duffau G., García I. y Urbina A. M.: "Síndrome diarreico agudo del lactante. Empleo de la reacción de Fehling en el diagnóstico de la intolerancia a los disacáridos". *Pediatría* (Santiago) 15: 452, 1972.
- 9.— Walker A. C. y Harry J. G.: "A survey of diarrhoeal disease in malnourished aboriginal children". *Med. J. Australia*. 1: 904, 1972.
- 10.— Gracey M. y Bower G.: "Fatal diarrhoeal disease in Australian aboriginal children". *Aust. N. Z. J. Med.* 3: 255, 1973.
- 11.— Gracey M. y Burke V.: "Sugar induced diarrhoea in children". *Arch. Dis. Child.* 48: 331, 1973.
- 12.— Morley D. en: "Paediatric priorities in the developing world". Editor John Apley, Butterworths, (1973.
- 13.— Lifshitz F., Cornado-Cornet M. C. y Coello-Ramírez P.: "Excretion of lactic acid and carbohydrate in the stools of infants with diarrhoea". Citado por Lifshitz y cols. Referencia Nº 6.
- 14.— Townley R. R. W.: "Disacharidase deficiency in infancy and childhood". *Pediatrics*. 38: 127, 1966.
- 15.— Soeparto P., Stobo E. A. y Walker-Smith J.: "Role of chemical examination of the stool in diagnosis of sugar malabsorption in children". *Arch. Dis. Childh.* 47: 56, 1972.
- 16.— Kerry K. R. y Anderson C. M.: "A ward test for sugar in faeces". *Lancet*. 1: 981, 1964.
- 17.— Anderson C. M., Burke V., Messer M. y Kerry K. R.: "Sugar intolerance and Coeliac Disease". *Lancet*. 1: 1322, 1966.
- 18.— Coello-Ramírez P. y Lifshitz F.: "Enteric microflora and carbohydrate intolerance in infants with diarrhoea". *Pediatrics*, 49: 233, 1972.
- 19.— Ament M. E., Perera D. R. y Ester L. J.: "Sucrase-isomaltase deficiency - a frequently misdiagnosed disease". *J. Pediat.* 83: 721, 1973.
- 20.— Lynch M. J. y cols. en: "Métodos de Laboratorio". Primera Edición en español. Ed. Interamericana, 1965.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los Químico - Farmacéuticos Sra. Hilda Kunzagk y Sr. Jorge Avendaño su valiosa ayuda en el curso de este trabajo; al Dr. Eduardo Donoso por las facilidades para el uso del Laboratorio y a la Sra. María Urbina, Químico-Farmacéutica del Hospital "Roberto del Río" su información acerca de la técnica de Fehling.