TEST DEL SUDOR, TÉCNICA Y ERRORES

SWEAT TEST, TECHNIQUE AND ERRORS

Dr. Oscar D. Fielbaum C.

Jefe Departamento de Pediatría y Centro de Fibrosis Quística
Clínica Las Condes

SWEAT TEST, TECHNIQUE AND ERRORS

The quantitative measurement of the sweat electrolytes continue being the gold standard for cystic fibrosis diagnosis. Is very important that centers dedicated to diagnosis and treatment of the disease, have trained personnel in order to measure chloride sweat with the accepted technique in international literature. This paper reviews the main aspects and steps of the quantitative measurement of the sweat chloride concentration, obtained with pilocarpine iontophoresis and the common mistakes committed when realizing it.

Keywords: sweat test, cystic fibrosis

RESUMEN

La medición cuantitativa de los electrolitos en sudor continúa siendo el examen diagnóstico de la fibrosis quística. Por ello es fundamental que los centros dedicados al diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad, cuenten con laboratorios con personal entrenado y capacitado para medir el cloro en el sudor con la técnica aceptada en la literatura. Este artículo revisa los principales aspectos y etapas de la medición cuantitativa de la concentración de cloro en el sudor obtenido con iontoforesis de pilocarpina y los errores más comunes que se cometen al realizarlo.

Palabras clave: test del sudor, fibrosis quística

INTRODUCCIÓN

El test del sudor es el examen "estándar de oro" para el diagnóstico de la fibrosis quística (FQ). La técnica de iontoforesis de pilocarpina cuantitativa para la medición de la concentración de cloro en el sudor, requiere de una metodología rigurosa para su realización, para evitar los resultados falsos positivos y falsos negativos.

Por ello, la Fundación para la FQ (Estados Unidos) ha desarrollado una guía muy precisa y rigurosa (1), a la que tienen que adherir los laboratorios que realizan el examen, para ser acreditados a través de un estricto programa de inspección por lista de cotejo, que está descrita en el documento "Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), sweat testing document C34-A2" (2).

En este artículo resumiremos las principales recomendaciones de esta guía, para la obtención de test del sudor confiables.

HISTORIA DEL TEST DEL SUDOR

Debemos el examen diagnóstico de la FQ al Dr. Paul A. Di Sant'Agnese, hijo de padre médico y madre pianista, graduado

"magna cum laude" en la Escuela de Medicina de la Universidad de Roma en 1938, y Doctor en Medicina de la Universidad de Columbia en Nueva York en 1948.

En 1938 Dorothy Andersen describió la "Fibrosis Quística del Páncreas" en autopsias de niños fallecidos por presunta Enfermedad Celíaca. En 1952 junto a Kessler muestran que el 50% de los niños hospitalizados por deshidratación y colapso vasomotor debido a la ola de calor en Nueva York en agosto de 1948 padecían de fibrosis quística.

Mientras trabajaba en el Hospital de niños Presbiteriano de Manhattan (1948 -1959), y a propósito de esta publicación, Paul Di Sant'Agnese planteó que estos enfermos podrían tener un trastorno de la función de las glándulas sudoríparas, publicando su trabajo en mayo de 1953. Se demostró así, por primera vez, que los niños con FQ secretaban un sudor con alta concentración de iones de cloro y sodio en comparación con los controles, hecho que explicaba la labilidad de los pacientes al efecto del calor, y que podía utilizarse como método diagnóstico de la enfermedad (3). El Dr. Di Sant'Agnese estimuló la producción de sudor en la piel del abdomen de 43 pacientes con fibrosis quística y 50 controles, de 2 a 16 años, mediante la estadía en una sala a 32,2° C de temperatura y 50% de humedad por 1 a 2 horas, y recolectó el sudor en una gasa de 12 cm² sellada con plástico y tela adhesiva impermeables. La técnica era engorrosa y desagradable para los pacientes, quienes tenían que someterse a la tensión del calor ambiental (3). Posteriormente, en 1959, Lewis Gibson y Robert Cooke describen la técnica de iontoforesis con pilocarpina para estimular la producción de sudor, que conocemos hoy como el "test del sudor" (4).

Correspondencia:

Dr. Oscar D. Fielbaum
Clínica Las Condes
Lo Fontecilla 441, Las Condes
Santiago de Chile
Correo electrónico: ofielbaum@clc.cl

ETAPAS PARA REALIZACIÓN DEL TEST DEL SUDOR (1,2)

El test del sudor cuantitativo consta de 4 pasos básicos:

1. Estimulación de la producción de sudor mediante iontoforesis con pilocarpina
2. Recolección del sudor mediante: gasa, papel filtro (Gibson y Cooke) o espiral (Macroduct®)
3. Evaluación de la cantidad recolectada en peso (mg) o volumen (ml)
4. Medición de la concentración de cloro en el sudor

Iontoforesis con pilocarpina

Consiste en introducir en la superficie de la piel nitrato de pilocarpina, droga colinérgica, que estimula la producción de sudor por las glándulas sudoríparas. Esto se logra mediante

el paso de corriente de bajo amperaje producida por un electroestimulador (Figura 1), a través de electrodos de cobre o acero inoxidable. Después de limpiar la piel con agua destilada o desionizada (Figura 2), se instala el electrodo positivo con pilocarpina en el antebrazo, y el electrodo negativo con solución electrolítica en el brazo (Figura 3).

Si la recolección se realiza mediante la técnica de Gibson y Cooke, con gasa o papel filtro, se utiliza una concentración de pilocarpina de 14,7 mmol/L (4g/L). Si la recolección es con espiral Macroduct®, se usan discos de Pilogel 18,4 mmol/L (5g/L). El electrodo negativo puede tener una solución de 0,05 mol/L de sulfato de magnesio ($MgSO_4$) o 0,01 mol/L de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Los electrodos deben ser colocados sobre piel sana, libre de heridas, exantemas o inflamación. Como alternativa se puede usar la piel del muslo. El electroestimulador debe operar con baterías, y aplicar una corriente de 4 mA como máximo, durante 5 minutos. La edad mínima para realizar el test son 48 horas de vida, considerando que en las primeras 4 semanas es más difícil obtener una muestra de sudor adecuada. Por ello, se recomienda realizar el examen en recién nacidos asintomáticos (sospecha por tamizaje neonatal o hermano de FQ) a las 2 semanas de vida, y con un mínimo de 2 kilos de peso.

Figura 1. Equipo electroestimulador y electrodos

Figura 2. Preparación de la piel del antebrazo

Figura 3. Instalación de electrodos

Recolección de sudor

Si se recolecta con gasa o papel filtro, el área a estimular debe ser de 25 cm², y el electrodo ocupar el 50% de dicha área. La recolección se realiza donde estuvo el electrodo positivo, con pilocarpina. La muestra mínima a obtener después de 30 minutos de recolección es de 75 mg. Si se recolecta con espiral Macroduct® (Figura 4), la muestra mínima aceptable es de 15 µL a los 30 minutos.

Figura 4. Recolección del sudor con espiral

La exigencia de una muestra mínima aceptable es fundamental para obtener un resultado válido, ya que la concentración de electrolitos en el sudor es directamente proporcional a la tasa de sudor producido. A bajas tasas, la concentración disminuye, y la posibilidad de evaporación de la muestra aumenta. La tasa de producción de sudor debiera exceder 1g/m²/ por minuto. Recolectar por más de 30 minutos sólo aumenta el riesgo de evaporación de la muestra. La incidencia de muestras insuficientes no debiera superar el 5% de pacientes mayores de 3 meses. Si lo supera, se debe revisar la correcta aplicación de las normas.

Los factores que influyen en la cantidad de muestra incluyen la edad, el peso, la etnia y la condición de la piel. Pacientes que pesan menos de 2 kg, o de menos de 38 semanas de edad gestacional, o de raza afroamericana tienen mayor probabilidad de obtener muestras insuficientes.

Evaluación de la cantidad recolectada

Se debe pesar (gasa o papel filtro) o medir el volumen (espiral Macroduct®) (Figura 5) para decidir si es una muestra suficiente para evaluar la concentración de cloro. El sudor recolectado en gasa o papel, una vez pesado, puede guardarse en frasco sellado por hasta 3 días a temperatura de refrigerador. Para Macroduct® no hay estudios publicados de almacenaje.

Figura 5. Medición de sudor recolectado en espiral

No se deben sumar muestras pareadas y una muestra pareada (hecha en el mismo día) no constituye el segundo test del sudor para confirmar el diagnóstico. El diagnóstico se confirma con un nuevo test del sudor realizado en un día distinto.

Medición de la concentración de cloro

Sólo se acepta como válida la medición cuantitativa de la concentración de cloro en una muestra de peso o volumen suficiente, mediante cualquiera de los siguientes métodos:

- Titulación coulombiométrica, usando un Cloridómetro (Figura 6)
- Titulación manual, método de Schaales y Schaales con nitrato de mercurio
- Analizadores automáticos, usando electrodos ion-selectivos, que debe ser validado sistemáticamente con alguno de los dos métodos anteriores (a y b)

El valor límite inferior de detección debiera ser menor a 10 mmol/L y el límite superior no puede superar los 160 mmol/L. Cifras superiores a 160 mmol/L son fisiológicamente imposibles, y deben considerarse error del laboratorio.

Figura 6. Titulación de Cloro (Cloridrómetro)

VALORES DE REFERENCIA (5)

En lactantes menores de 6 meses, se considera:

- < de 30 mmol/L: negativo
- 30 a 59 mmol/L: indeterminado, "border line"
- > 60 mmol/L: positivo, consistente con el diagnóstico de FQ

En mayores de 6 meses, se considera:

- < 40 mmol/L: negativo
- 40 a 59 mmol/L: indeterminado, "border line"
- > 60 mmol/L: positivo, consistente con el diagnóstico de FQ

INFORME DEL TEST DEL SUDOR

El informe final debe incluir :

- La técnica de recolección del sudor; gasa, papel filtro o espiral Macroduct®
- La cantidad de sudor en mg o μ L
- El valor de la concentración de cloro en mmol/L
- La técnica de medición del cloro

En Chile muchos laboratorios utilizan la técnica de medición indirecta del cloro a través de la conductividad eléctrica de la muestra ("Webcor Macroduct Sweat Chek"), sin embargo sólo es aceptado por la Fundación de FQ como un método de screening y no puede ser usado para establecer el diagnóstico de la enfermedad (6,7). Valores mayores a 50 mmol/L por conductividad se consideran sospechosos, y se debe indicar el test del sudor por medición cuantitativa.

No es apropiado realizar el test del sudor utilizando:

- a. Aplicación directa del electrodo para cloro sobre la piel del paciente.
- b. Reacción de precipitación de cloro colocando el parche directamente en la piel del paciente
- c. Medición sólo sodio o potasio
- d. Medición de osmolalidad

REQUISITOS DEL LABORATORIO PARA REALIZAR EL TEST DEL SUDOR (2)

El laboratorio acreditado para realizar el examen debe disponer del documento "Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), sweat testing document C34-A2" de 2009 para su revisión y chequeo permanente. El examen debe ser realizado a un número suficiente de pacientes y por un número limitado de personal de laboratorio bien entrenado y con experiencia, quienes deben pasar por un test de competencia periódico, cada 6 meses en el primer año, y luego anualmente. El test del sudor debiera estar disponible para realizar un mínimo de 2 veces por semana, y el tiempo de espera ante la solicitud no debiera ser superior a las 2 semanas, tanto para obtener un diagnóstico a tiempo, como para disminuir la ansiedad de los padres frente a la espera de un resultado tan importante.

CONCLUSIÓN

El test del sudor con la técnica de iontoforesis con pilocarpina para la medición de la concentración de cloro sigue siendo el examen estándar de oro para el diagnóstico de la FQ. Los centros que se dedican al manejo de la enfermedad se deben preocupar de contar con el examen cuantitativo confiable, ceñido a las normas establecidas internacionalmente.

El cumplimiento de estas normas se hace especialmente importante en la medida que el tamizaje neonatal para FQ se ha ido extendiendo y en un futuro cercano abarcará la totalidad de los recién nacidos en nuestro país. En ese momento deberemos contar con laboratorios entrenados y acreditados para realizar el test del sudor adecuada y oportunamente en todo el país.

El autor declara no presentar conflicto de intereses

REFERENCIAS

1. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quitell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr* 2007; 151:85-9
2. Wayne PA. CLSI. Sweat testing: Sample Collection and Quantitative Chloride Analysis; Aproved Guideline-Third Edition. CLSI document C34-A3: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009
3. Di Sant' Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal Electrolyte Composition of Sweat in Cystic Fibrosis of the Pancreas. *Pediatr* 1953;12:549-622
4. Gibson LE, Cooke RE. A Test for Concentration of Electrolytes in Sweat in Cystic Fibrosis of the Pancreas utilising Pilocarpine Electrophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545-49
5. Farrell P, 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 *Pediatr*. 2008; 153: S4-S146
6. Cinel G, Doğru D, Yalçın E, Özçelik U, Gürçan N, Kiper N. Sweat conductivity test: can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? *Turk J Pediatr* 2012; 54: 576-5827
7. Sánchez I, Perret C, Kolbach M, Schwerter MT, Quiroga T. Comparación entre dos métodos de determinación del test del sudor en el diagnóstico de la fibrosis quística. *Rev Chil Pediatr* 1999;70:281-287