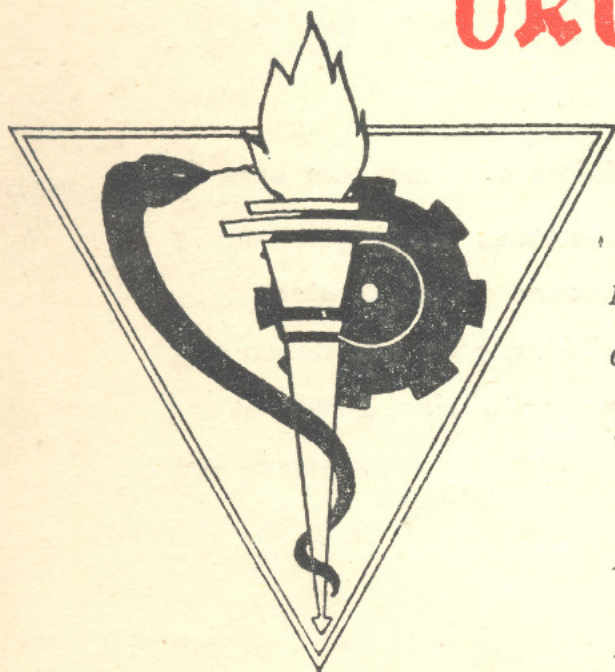


PR



ÓRGANO OFICIAL de la ASOCIACIÓN de ESTUDIANTES de QUÍMICA URUGUAY



— SUMARIO —

<i>La nueva Sección de Inmunohematología</i>	1
<i>Cursillo de Inmunohematología. — Prof. Mario Hübner</i>	3
<i>Técnica simplificada para la determinación de la glucosa en la orina de los diabéticos. — Dr. Juan F. Saredo</i>	45
<i>Algunas ideas sobre Universidad e Investigación. — Q. I. Irene Michaelis de Saenz</i>	51
<i>Noticias Químicas</i>	59
<i>Sección Bibliográfica</i>	61

1958

Número único

Vol. VIII

Técnica simplificada para la determinación de Glucosa en la Orina de los Diabéticos

Dr. JUAN F. SAREDO

INSTITUTO DE INVESTIGACION Y ASESORAMIENTO.
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA.

RESUMEN

En el número 1 - 3 (Vol. V) año 1955, página 42D de esta Revista "pR", publiqué una técnica similar. La técnica que ahora propongo es igualmente una adaptación del método de Causse y Bonnans y ha sido simplificada para facilitar su empleo; aunque algo menos precisa que la anterior se adapta bien al control clínico del diabético.

Sobre la llama de un mechero de alcohol se calienta una cantidad determinada de reactivo con dos gotas de orina durante unos 20 segundos; tomando como base tres coloraciones (azul, tintes pálidos y colores sucios) y posibles adiciones posteriores de orina (2 y 4 gotas más), se deducen valores de 20, 15, 10, 7, 5 y 2 gramos de glucosa por litro; operando con una dilución al quinto de orina, se deducen valores de: 100, 75, 50 y 25 gramos. Dado que los reactivos y la orina se miden por gotas se da una técnica de calibración, empleando como tipo una solución de glucosa de 10 gramos por litro, con la cual se calibra el juego de goteros que dispone cada operador, respecto a la tabla de valores



El fundamento y principio de la técnica es similar a la anterior; la principal simplificación consiste en calentar la mezcla de reactivos y orina sobre la llama de un mechero de alcohol, con ello la operación se realiza en menos tiempo y se reduce el instrumental necesario. La otra innovación consiste en emplear el tubo gotero del reactivo azul (cúprico) como comparador de coloración, en esa forma el operador logra fijar con cierta precisión uno de los tres puntos de referencia.

MATERIAL NECESARIO: 2 frascos goteros (uno con reactivo cúprico,

el otro con reactivo tartárico); 1 tubo gotero (cuenta gotas) para la orina; un mechero de alcohol o frasco con alcohol y algodón; 2 tubos de ensayo, más bien de vidrio fino, fósforos.

REACTIVOS: SOLUCION CUPRICA (azul): Se disuelve 40 gramos de sulfato de cobre en 700 ml. de agua caliente; se enfría y se lleva a un litro.

SOLUCION TARTARICA (incolora): Se disuelve 200 gramos de sal de Seignette, 150 gramos de soda cáustica y 30 gramos de ferrocianuro de potasio en 700 ml. de agua, calentar suave hasta disolución dejar enfriar y llevar a un litro. Las soluciones para uso de los enfermos se envasan en frascos goteros (tipo colirio) de color caramelo; su conservación es prácticamente indefinida. Los propios goteros se emplean para medir el reactivo.

FORMA Y TIEMPO DE CALENTAMIENTO.— La técnica del calentamiento se ha simplificado de modo que pueda adaptarse aún a las circunstancias imprevistas de un viaje.

Se puede emplear un mechero o lamparita de alcohol, pero puede sustituirse mediante una antorcha preparada con algodón humedecido con alcohol. La antorcha se prepara con un trozo de algodón común que se prensa ligeramente en forma de bolita de unos 2 cm. de diámetro; luego se humedece con un alcohol combustible (se presta muy bien el alcohol azul de primus pero puede emplearse cualquiera de uso doméstico); el algodón humedecido se coloca a título de antorcha sobre la boca de un frasquito de vidrio (al respecto se puede usar un frasco de 30 c.c. donde se guarda el alcohol para varias determinaciones, conviene llenarlo sólo algo más de la mitad).

La antorcha se prende con un fósforo cuando ya se tiene pronta la mezcla de reactivos y las dos gotas de orina, al iniciar la determinación; así, con una sola antorcha se realiza una determinación completa; pues preparada en la forma descrita da para unos 2 minutos de calentamiento.

Para efectuar la reacción, el tubo con la mezcla de reactivos y orina se calienta por espacio de unos 20 segundos (20'') a ebullición o punto muy cercano a la ebullición. Con el fin de uniformar la técnica y evitar sobresaltos, se aconseja calentar en esta forma: se acerca el tubo a la llama agitando suavemente; cuando alcanza a hervir se retira unos instantes y se acerca periódicamente de modo de mantener el contenido del tubo en ebullición o punto muy cercano, durante los 20 segundos; pues el tiempo se cuenta a partir de la primera ebullición.

PUNTOS DE REFERENCIA (Escala de colores). — En esta técnica simplificada se van a tomar sólo tres puntos o colores de referencia: A, corresponde a un color azul; P, corresponde a tintes pálidos; S, corresponde a colores sucios o subidos.

La mezcla de las soluciones reactivos, da un líquido de color azul intenso; por la acción de la glucosa el color azul se va atenuando pasando a tintes más pálidos; como el efecto es progresivo, resulta confuso definir tintes de transición.

Con el fin de definir prácticamente un punto, he tomado como referencia al alcance del operador el color azul del tubo gotero que contiene la solución cúprica; a base de ese comparador, considero que la mezcla se man-

tiene en la zona azul (A) mientras el color es superior o igual al tinte azulado del líquido del tubo gotero de la solución cúprica. En esta forma se pueden establecer los tres puntos de referencia para el cuadro de valores.

A == azul. Puede variar del azul al azul verdoso pero su intensidad debe ser superior o igual a la coloración del tubo gotero que contiene la solución cúprica.

P == pálidos. Colores pálidos que pueden ir: del celeste o azul pálido, pero inferior al color del tubo gotero, hasta el incoloro o amarillo pálido. Es decir tintes pálidos vecinos al incoloro.

S == colores sucios o subidos. Pueden ir desde el amarillo intenso, amarillo sucio, verde sucio y marrones.

TECNICA DE LA DOSIFICACION

RECOMENDACION GENERAL. — Conviene elegir un juego de goteros cuyos tubos y orificios de salida sean aparentemente semejantes, de modo que las gotas no difieran mucho de tamaño. Es importante cuidar que las gotas sean lo más idénticas posible; para ello voy a recomendar la siguiente forma para medir las gotas: tratar de llenar los goteros siempre a la misma altura apoyar la punta durante unos segundos en el cuello del frasco, como para dejar escurrir el líquido que lo moja exteriormente; luego, haciendo débil presión en la pera de goma, se dejan caer libremente las gotas en forma espaciada de modo que se puedan contar.

Observando esos detalles se asegura la regularidad de los resultados.

TECNICA. — En un tubo de ensayo limpio se ponen y mezclan en este orden: 8 gotas de solución incolora (tartárica), 8 gotas de solución azul (cúprica) y 2 gotas de orina. Agitar para mezclar. Prender el mechero o antorcha de alcohol. Calentar el tubo (conviene agitarlo suavemente durante el ensayo), cuando hierve se retira un instante de la llama, luego se calienta nuevamente a ebullición; el calentamiento en esta forma (cercana a la ebullición) se prolonga durante unos 20 segundos (20''); después de iniciada la ebullición.

Al final se observa el color de la mezcla tratando de definir uno de los tres matices:

A == azul P == pálido S == sucios o subidos.

Esta primera parte de la determinación se denomina 1.er tiempo.

Si el color es azul (zona A) se pasa a un 2º tiempo agregando: **2 gotas más de orina** y calentando otros 20'.

Si vuelve a quedar en la zona azul (A), se pasa a un 3.er tiempo agregando **4 gotas más de orina**; véase que en este 3.er tiempo se agregan 4 gotas de orina; luego se calienta otros 20'.

Si al final de cualquiera de los 3 tiempos se producen los matices (P) pálido, o (S) sucio, la determinación queda terminada y basta buscar en el cuadro de valores (véase más abajo) la cantidad de glucosa que corresponde.

CUADRO DE VALORES

La cantidad de glucosa se establece en función de los tres puntos de referencia (colores A, P y S) y a través de tres tiempos; con esas referencias se deducen valores entre 20 gramos o más de glucosa por litro hasta límite de negativo.

En el cuadro se expresan los valores en gramos (gr.) de glucosa por litro de orina.

CUADRO DE VALORES

1.er tiempo: Mezcla de: 8 gotas de cada reactivo y 2 gotas orina Calentar 20" en la forma indicada.

S. (sucio)	P. (pálido)	Azul
20 gr. o más	15 gr.	Pasa a 2º tiempo

2º tiempo: Adicionar: 2 gotas más de orina. Calentar 20".

S. (sucio)	P. (pálido)	Azul
10 gr.	7 gr.	Pasa a 3.er tiempo

3.er tiempo: Adicionar: 4 gotas más de orina. Calentar 20".

S. (sucio)	P. (pálido)	Azul o verde
5 gr.	2 gr. (vestigios)	No contiene

OBSERVACION: Si el operador es sensible al calentamiento, puede proteger sus dedos durante la operación, envolviendo el tubo en la parte superior con una tira de papel de unos 5 centímetros de ancho, arrollada varias veces.

DIFICULTADES EN LA APRECIACION DE LOS PUNTOS DE REFERENCIA

Aunque se trata de operaciones simples lo más conveniente sería que cada nuevo operador practicara algunas determinaciones con alguna persona capacitada; las indicaciones que siguen son normas para quienes se inician en la aplicación del método.

Cuando en una determinación se alcanzan matices extremos: los puntos A (azul franco), S (de amarillos sucios a marrones) no ofrecen ninguna duda; pero los matices intermedios del P (pálido), como son: el azul pálido cercano al A y amarillo pálido, cercano al S; pueden resultar dificultosos.

Con el fin de vencer toda confusión se aconseja: si al finalizar un tiempo, el color resulta confuso, se continúa la determinación pasando al tiempo siguiente (adición de más orina según el cuadro de valores) luego se calienta unos 20" la en forma establecida, pero observando la rapidez con que pueden aparecer los tintes netos del punto S (sucio o subido).

Teniendo en cuenta que la duda puede surgir principalmente en los dos límites señalados: zona azul-pálido y zona pálido-sucio, la interpretación la haré separadamente.

CASO DE UN AZUL DUDOSO, EN LIMITE CON P.

Después de haber agregado la orina del tiempo siguiente y hervido pueden definirse 3 posiciones:

- 1º — Queda dentro de los matices del pálido. Se toma como valor, el que corresponde al P. del tiempo de esta última adición de orina. Este caso se puede producir cuando el operador no comparó bien el tinte con el azul del gotero.
- 2º — Tomó lentamente (10' a 20') los colores del sucio. Se da el valor de S. que corresponde al tiempo de esta última adición de orina.
- 3º — Tomó rápidamente (5' a 10') los colores del sucio. Conviene tomar como valor, el intermedio entre el P. del tiempo anterior y el S. de esta última adición de orina.

CASO DE UN TINTE PALIDO EN LIMITE CON S.

Después de agregar la orina del tiempo siguiente y hervido, pueden definirse dos posiciones:

- 1º — Los colores del sucio, aparecen rápidamente (5' a 10'). Conviene tomar como valor, el intermedio entre el P. del tiempo anterior y el S. de esta última adición.
- 2º — Los colores del sucio aparecen lentamente (10' a 20'). Se da el valor del S. que corresponde a esta última adición de orina.

AMPLIACIONES. — Dentro de esa técnica general caben dos ampliaciones; una en el sentido de definir la presencia de vestigios (alrededor de dos gramos); y otra en el sentido de definir la existencia de cantidades de glucosa superior a los 20 gramos por litro.

VESTIGIOS DE GLUCOSA. — Cuando el color pálido del 3.er tiempo resulta dudoso debido a tintes verdosos de la mezcla de orina con reactivo sin reducir, la presencia de vestigios se puede definir haciendo un cuarto tiempo para lo cual se agregan al tubo: 4 gotas más de orina y se calienta unos 20". Si se producen colores subidos del amarillo intenso, sucio o marrón puede establecerse la presencia de vestigios de glucosa (alrededor de 2 gramos); si la mezcla queda solo verdosa, se dará por negativa.

PRESENCIA DE MAS DE 20 GRAMOS DE GLUCOSA. — Cuando al finalizar el 1.er tiempo se obtiene un color sucio (S), la cantidad de glucosa puede ser 20 gramos o más por litro; con el fin de definir la cantidad, se hará un nuevo ensayo: en otro tubo se ponen 8 gotas de cada reactivo y una (1) sola gota de orina y luego se calienta 20"; los valores son:

Color sucio (S): 40 gr. o más de glucosa por litro.

Color pálido (P): unos 30 gr. por litro.

Color azul (A): unos 20 gr. por litro.

La mejor forma de definir cantidades de glucosa superiores a los 40 gramos por litro, es diluir la orina con agua, empleando el mismo cuenta gotas que es utilizado para medir la orina.

La dilución al $\frac{1}{5}$ es una proporción conveniente que permite abarcar límites de 25 a 100 gr. por litro; basta mezclar 16 gotas de agua y 4 gotas de orina luego se aplica la técnica general; el resultado obtenido de acuerdo al cuadro de valores se multiplica por 5. Así: el "S" del 2º tiempo corresponde a 50 gr. por litro; el "S" del 3.er tiempo corresponde a 25 gr. por litro.

CALIBRACION DE LOS REACTIVOS CON EL JUEGO DE GOTEROS

Cuando sólo interesa obtener valores relativos de la variación de la glucosa en la orina de un diabético o un dato aproximado, se puede utilizar la técnica sin preocuparse de la calibración del juego de goteros empleados; pero cuando interesa tener valores más reales, se debe proceder a dicho calibrado. La calibración propuesta es bastante sencilla y sólo requiere una solución tipo de glucosa de 10 gramos por litro.

Las determinaciones para la calibración se hacen de acuerdo a la técnica descrita: en un tubo se colocan 8 gotas de cada reactivo y 2 gotas de la solución tipo de glucosa medida con el cuenta gotas que se empleará para medir la orina; calentar en la forma indicada 20"; la mezcla debe quedar azul, de un tinte superior al gotero cúprico. Luego se adicionan 2 gotas más de solución de glucosa y se calienta 20"; si se produce el tinte sucio (S), el juego queda calibrado para el cuadro de valores; si no se obtiene el resultado indicado es porque el juego de goteros no se adapta a esas proporciones y por lo tanto deben ajustarse. Pueden presentarse dos casos: en el primer tiempo el azul resultó atenuado (igual o inferior al gotero) o aún, se tuvo un tinte de la zona P; en este caso se reinicia el ensayo pero empleando 9 ó 10 gotas de cada reactivo; en el otro caso, al aplicar el 2º tiempo no se obtiene el punto "S" y la solución quedó en P o en A; entonces se repite el ensayo empleando 6 ó 7 gotas de cada reactivo.

Los ensayos se repiten hasta encontrar el número de gotas que se deben emplear de cada reactivo para que: en 1.er tiempo la solución quede azul (un azul algo superior al gotero cúprico) y que en 2º tiempo dé netamente el tinte "S".

Determinado el número de gotas de los reactivos que se ajustan a esa exigencia, queda calibrado el juego de goteros de acuerdo al cuadro de valores indicado en el técnica general.

El número de gotas 8 establecido en la técnica, es bastante corriente para los goteros comunes con orificios no demasiado finos ni gruesos; en general, el número oscila alrededor de ese valor (7 a 9); una vez ajustado, en las determinaciones que se realizan con el juego calibrado, se empleará de cada reactivo, el número de gotas que respondió al ensayo de calibración.