

# Un método simple para diabéticos, de determinación de glucosa en la orina

Dr. JUAN F. SAREDO

Understanding that it may be helpful, a method for the determination of dextrose in urine, that can easily be carried out by the patient or any fairly careful relative, is communicated.

The determination is based on Causse and Bonnans method heating in a boiling water bath a fixed amount of reagent with two drops of urine and observing the color between one and two minutes; if the reduction is not complete two drops more are added; a third reduction time is set by adding four drops more.

In this way, a scale that goes from 40 to 0 grams per liter is set up, its intermediate values being 30, 20, 15, 10, 8, 5, and 2 grams per liter.

Measuring the urine reagents by drops (droppers), a simple calibration method for the droppers and reagents has been established, using as standard a 10 grams per liter dextrose solution or the own diabetics' urine analyzed by a reliable laboratory.

## RESUMEN

Estimando ser útil, se divulga una técnica de determinación de glucosa en la orina que puede ser fácilmente realizable por un enfermo o familiar algo cuidadoso.

Sobre la base del método de Causse y Bonnans se desarrolla la determinación calentando en un baño de agua hirviendo una cantidad determinada de reactivo con 2 gotas de orina y observando las coloraciones entre 1 y 2 minutos; si la reducción no es total, se repite la adición de 2 gotas más de orina; estableciendo un tercer tiempo de reducción, adicionando 4 gotas más.

Se deduce así una escala de valores que pueden ir desde 40 gramos por litro a reacción negativa; los valores intermedios son: 30, 20, 15, 10, 8, y 2 gramos por litro.

Midiendo los reactivos y la orina por gotas (frascos goteros), se estableció una técnica sencilla de calibración del juego de goteros y reactivos, empleando como solución tipo, una solución de glucosa de 10 g. por litro o la propia orina del diabético previamente dosificada en un buen laboratorio.

Estimando que puede ser útil divulgar procedimientos sencillos para la dosificación de glucosa en la orina de diabéticos, voy a dar a conocer un técnica simple que he ideado hace algún tiempo y que puede ser fácilmente realizada por cualquier enfermo o familiar algo cuidadoso.

Las técnicas divulgadas sobre apreciación de matices por la reducción del clásico reactivo de Fehling, como también la comercialización de comprimidos basados generalmente en ese mismo reactivo, aunque pueden llenar alguna finalidad clínica resultan imprecisos; además, los comprimidos sufren alteraciones y suelen faltar en el comercio.

La técnica que voy a recomendar es una adaptación del conocido método de Causse y Bonnans, que es una de las modificaciones del Fehling más divulgadas en los laboratorios clínicos, por la nitidez del viraje aún a la luz artificial. Es un método que realizado en condiciones bien determinadas (calentamiento, velocidad de adición de orina, tiempo de reducción) da resultados relativamente precisos.

En la técnica que recomiendo, a base de medida por gotas, no se llega a una dosificación precisa sino a una determinación aproximada que para la finalidad del autocontrol clínico puede en general servir perfectamente.

Se ha tratado de coordinar los factores variables para deducir la

cantidad de glucosa; trabajando a una temperatura relativamente constante, como puede ser un baño de agua en ebullición, es posible la determinación operando con una cantidad constante de un reactivo y tomando como referencias: la concentración de glucosa en la orina, el tiempo de reducción y los matices que origina la reducción del Fehling en presencia del ferrocianuro de potasio.

La mayor dificultad de un método analítico a base de medida "por gotas", es la incertidumbre de obtener o producir gotas iguales; ese inconveniente ha sido salvado, estableciendo el calibrado relativo de los goteros a emplearse en la determinación, por el propio operador tomando como base una solución tipo de glucosa.

Con el fin de reducir el número de medidas, se pensó en preparar una solución única de Fehling sobre la base de las tres soluciones necesarias para aplicar el método de Causse y Bonnans: solución tartárica, cúprica y de ferrocianuro de potasio.

El reactivo se conserva bastante bien, pero al cabo de cierto tiempo pierde precisión en el final de la reacción; aunque la solución única puede ser utilizada, se ha preferido el empleo de dos soluciones, pues la solución de ferrocianuro puede estar incluida en la solución tartárica alcalina conservándose perfectamente bien.

La técnica será descrita en tres partes:

Reactivos y material necesario.

Técnica de la determinación y esquema o cuadros de valores.

Calibrado de los goteros en función del esquema de valores.

### REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIO

Solución cúprica (azul): 40 gramos de sulfato de cobre, se disuelven en 700 ml. de agua en caliente; se enfría y se lleva a un litro.

Solución tartárica (incolora): 200 gramos Sal de Seignette, 150 gramos de soda cáustica, 30 gramos de ferrocianuro de potasio; se disuelven en 700 ml. de agua caliente; se enfría y se lleva a 1 litro.

Las soluciones para el uso de los enfermos se envasa en frascos goteros (tipo colirio) de color caramelo; su conservación es prácticamente indefinida (dispongo de soluciones con más de dos años).

Los propios goteros servirán para medir los reactivos. Además, se dispondrá de una pipeta o cuentagotas un poco más largo con un

perita de goma; se usará para medir la orina y las soluciones tipo de glucosa durante la calibración de los reactivos y goteros.

Para la calibración se empleará una solución glucosa de 10 gramos por litro; o una muestra de orina del propio enfermo dosificada por un buen laboratorio.

Se debe disponer de: 2 tubos de ensayo más bien de vidrio fino; un jarrito esmaltado o vaso de Bohemia que sirva como baño de agua y un reloj que marque segundos.

### TECNICA DE LA DETERMINACION

Es fundamental cuidar que las gotas sean lo más idénticas posible, de modo que voy a recomendar especialmente la siguiente forma de medir las gotas: tratar de llenar los tubos goteros siempre a la misma altura, apoyar la punta, durante unos segundos, en el cuello del frasco para dejar escurrir el líquido que moja exteriormente el tubo gotero; luego, haciendo débil presión en la pera, se deja caer libremente las gotas en forma espaciada de modo que se puedan contar.

Conviene elegir un juego de goteros cuyos tubos y orificios de salida sean semejantes, de modo que las gotas no difieran mucho por su tamaño.

La medida de las gotas de la solución cúprica (azul) es la que exige más atención.

Son detalles simples y conviene acostumbrarse a practicarlos; en esa forma se obtienen resultados comparables que aseguran la precisión de la determinación.

Antes de iniciar la determinación, se prepara un baño de agua que se mantiene en suave ebullición durante todo el ensayo.

En un tubo de ensayo (limpio y seco) se ponen este orden:

7 gotas de reactivo tartárico (incolore).

7 " " " cúprico (azul).

2 " " orina.

Se mezclan bien y se ponen en el baño, tomando el tiempo; se observa los posibles cambios de color hasta un minuto (1'), y luego un minuto más: total 2'.

Tomando en cuenta el color de la mezcla y esos tiempos se dedu-

cen: tres puntos de referencia: Azul; R. T. (Reducción total); R. P. (Reducción parcial).

Azul: Aun a los 2' la mezcla conserva un color azulado apreciable; en caso de orinas muy amarillas puede admitirse un tinte verde-azulado.

R. T. (Reducción total): Antes de 1' y progresivamente la mezcla pasa de un tinte azulado, al amarillo más o menos pálido, tomando finalmente tintes oscuros (sucios) que pueden ir del amarillo o verde sucio al marrón muy oscuro; de modo que la mezcla observada alrededor del primer minuto (1') tiene un matiz sucio dentro de los tintes nombrados.

R. P. (Reducción parcial): Es en un punto intermedio entre los anteriores y por lo tanto es más difícil de precisar; puede determinarse en esta forma: Observada la mezcla alrededor de 1' puede tener un tinte verde o celeste pálido o un color amarillo más o menos pálido; al minuto siguiente (2') puede permanecer estacionado o producir matices sucios propios de R. T.

Se considera R. P. franco y corresponde dar el valor correspondiente al R. P. del cuadro de valores, cuando la mezcla a los 2' tiene color amarillo más o menos pálido o los matices sucios del R. P.

Se considera R. P. dudoso cuando la mezcla a los 2' tiene tintes celestes o verdes pálidos o aun un amarillo franco.

Cualquier R. P. dudoso se definirá agregando más orina (la cantidad que establece el cuadro de valores); puesta la mezcla nuevamente en el baño y observada un tiempo de unos 40" deben producirse los tintes más oscuros de R. T.; el cambio es tan nítido, que no deja ninguna duda al operador.

Al R. P. dudoso definido en esa forma, se le dará valores intermedios entre el R. P. de un tiempo y el R. T. del tiempo siguiente; como se establece más adelante.

Cuando se alcanza los puntos R. T. o R. P. franco, la determinación queda terminada dándose a la orina los valores que indica la tabla en cada caso; si a los 2' la mezcla queda azul más o menos atenuado o con tintes pálidos del R. P. dudoso, la operación se continúa agregando más orina; cada agregado de orina marca un tiempo y la técnica se desarrolla sobre tres posibles tiempos principales, intercalando valores entre 20 gramos de glucosa por litro a cero (negativo).

### Cuadro de Valores

Se mezclan en un tubo: 7 gotas de solución incolora, 7 gotas de solución azul y 2 gotas de orina.

Se colocan al baño hirviendo y se observa a 1' y 2'.

La letra g. significa gramos de glucosa por litro.

1. <sup>er</sup> tiempo:	R. T. (1')	R. P. (2')	Azul (2')
	20 g. o más	15 g.	Pasa a 2. <sup>o</sup> tiempo

Nota: pasa igualmente a 2.<sup>o</sup> tiempo, un R. P. dudoso.

2.<sup>o</sup> tiempo: agregar al mismo tubo 2 gotas más de orina. Mezclar, colocar en el baño, observar al 1' y 2'.

R. T. (1')	R. P. (2')	Azul (2')
10 g.	8 g.	Pasa a 3. <sup>er</sup> tiempo

Nota: pasa igualmente a 3.<sup>er</sup> tiempo, un R. P. dudoso.

3.<sup>er</sup> tiempo: agregar al tubo 4 gotas más de orina. Mezclar, colocar en el baño, observar al 1' y 2'.

R. T. (1')	R. P. (2')	Azul (2')
5 g.	3 g.	Negativo

### VALORES COMPLEMENTARIOS

Evidentemente los matices oscuros del R. T. permiten definir los valores con más seguridad. El R. P. franco es relativamente convincente; pero hay puntos intermedios difíciles de precisar como son los azules muy atenuados, los celestes, verdes y amarillos pálidos, que resultan francamente dudosos; la experiencia me ha demostrado que frente a cualquier punto dudoso lo mejor es adicionar más orina.

Siguiendo la técnica se agregará la cantidad que indica el cuadro, luego se coloca al baño y se observa: si alrededor de 40" se produce un intenso R. T. con colores muy oscuros se definirá la determinación estableciendo valores intermedios entre el R. P. del tiempo anterior y el R. T. correspondiente a la nueva adición de orina.

Así se establecen los siguientes valores complementarios:

R. P. dudoso en 1.<sup>er</sup> tiempo con R. T. intenso en 2.<sup>o</sup> tiempo se dará valores alrededor de 12 g. por litro.

R. P. dudoso en 2.<sup>o</sup> tiempo con R. T. intenso en 3.<sup>er</sup> tiempo se dará valores alrededor de 6 y 7 g. por litro.

R. P. dudoso en 3.<sup>er</sup> tiempo, se agregará 4 gotas más de orina; un R. T. intenso corresponde a valores de unos 2 g. por litro; los tintes amarillos corresponden a "indicios dudosos".

Otro valor complementario es sobre la base del R. T. del 1.<sup>er</sup> tiempo que equivale a 20 g. o más de glucosa por litro; su valor se puede ajustar repitiendo el ensayo empleando una sola gota de orina y estimarse: R. T. corresponde a 40 g. o más de glucosa por litro; R. P. franco alrededor de 30 g. y R. P. dudoso, alrededor de 20 g.

Si se quiere definir las cantidades superiores a los 20 g. por litro, queda el recurso de diluir la orina empleando el mismo cuentagotas para medir el agua y la orina; empleando luego la dilución se harán los ensayos de acuerdo a la técnica y el cuadro de valores, multiplicando el resultado por la dilución de la orina.

#### CALIBRADO DE LOS GOTEROS SEGUN EL ESQUEMA DE VALORES

Prácticamente la operación consiste en determinar el número de gotas de los reactivos que según el juego de goteros que dispone el operador son reducidas totalmente (R. T.) alrededor de 40" a 1' por 4 gotas de una solución de glucosa de 10 g. por litro. Para efectuar el calibrado se opera según la técnica descrita y se debe disponer de una solución tipo de glucosa de 10 g. por litro, o una dilución de orina del enfermo en la misma proporción.

Se coloca en un tubo: 7 gotas de solución incolora, 7 gotas de solución azul y 2 gotas de solución de glucosa; se mezclan y se coloca en el baño de agua hirviendo; luego se observa entre 1' y 2'.

Pueden presentarse dos casos: 1.<sup>o</sup> La mezcla queda azul (más o menos pálido); 2.<sup>o</sup> Se produce, R. P. o R. T.

1.<sup>er</sup> caso: *La mezcla queda azul.* — Se adiciona 2 gotas de solución glucosa y se vuelve al baño. Si se produce el R. T. dentro de 1' el ensayo está terminado. Si queda azul o sólo da R. P., se hará otro ensayo operando con menos gotas de cada reactivo (siempre se emplea el mismo número de gotas de cada reactivo); el nuevo ensayo, a criterio, se hará con 5 ó 6 gotas de cada reactivo; los ensayos se repiten hasta determinar el número de gotas de cada reactivo que aplicando la técnica producen R. T. en 2.<sup>o</sup> tiempo.

2.<sup>o</sup> caso: *La mezcla queda en R. T. o R. P.* — Se inicia otro ensayo empleando más gotas de cada reactivo; el nuevo ensayo, a criterio, se hará con 8 ó 9 gotas de cada reactivo hasta limitar el número de gotas que quedando azul en primer tiempo, se obtenga R. T. en 2.<sup>o</sup> tiempo.

Posteriormente al hacer las determinaciones, empleando el mismo juego de goteros y reactivos utilizados en la calibración, se tomará de cada reactivo el número de gotas establecidos experimentalmente, es decir: que si el efecto fué obtenido para 8 gotas de cada reactivo, el cuadro de valores es aplicable empleando 8 gotas de cada reactivo. El número (7), dado en la explicación técnica fué como ejemplo y para la mayoría de los juegos goteros oscila alrededor de ese valor.

El calibrado puede hacerse con una solución de glucosa de 5 g. por litro; en este caso se determinará el número de gotas de cada reactivo para producir el R. T. en el tercer tiempo; el ensayo puede abreviarse haciendo un primer tiempo; con cuatro gotas de solución tipo (5 g. de glucosa por litro) colocada la mezcla en el baño hirviendo debe quedar azul, a los 2', luego se adiciona 4 gotas más de solución debiendo producirse el R. T. antes de 1'.

El calibrado se hará siempre que se cambie alguno de los goteros; aunque los reactivos permanecen prácticamente invariables es conveniente hacer calibrados o verificaciones periódicas.

Las soluciones tipo de glucosa son fáciles de preparar y adicionadas de fenol se conservan algún tiempo; pero se debe aconsejar al enfermo que tome como tipo su propia orina; basta que en el laboratorio donde la manda analizar le preparen una dilución de 10 ó 5 gramos de glucosa por litro.

## SIMPLIFICACIONES DE LA TECNICA

Sobre la base del sistema de apreciación y las medidas por gotas son posibles muchas modificaciones; en general, efectuando el calibrado de goteros y reactivos de acuerdo a cada modificación es posible establecer un cuadro de valores.

Una de las simplificaciones más inmediatas sería suprimir el baño de agua y efectuar la reacción por calentamiento directo (pequeño mechero a gas o alcohol, calentador eléctrico, etc.); aunque cada operador puede adquirir la práctica para efectuar un calentamiento relativamente constante, el baño de agua en ebullición es más seguro; con todo, dentro de la relatividad de la determinación la simplificación puede resultar, pero conviene reducir el tiempo de calentamiento a 15 y 30 segundos.

Cuando se opera por calentamiento directo, conviene emplear tubos de ensayo de buena calidad, pues los tubos comunes se quiebran fácilmente.

## Revista de Revistas

G. B. MARINI-BETTOLO: *Recent advances in the methods of isolation and determination of structure of the natural substances. Anales de la Facultad de Química y Farmacia, 3, 7-134, 1954.*

The author reviews his lectures at the College of Chemistry and Pharmacy during August, 1953.

On the basis of the literature of recent years, the isolation, purification and determination of the structure of various natural products is reviewed, always based on the chemical or physico-chemical method used in the investigation under consideration.

Thus, adsorption chromatography, ion-exchange chromatography, counter-current distribution chromatography, chromatography on paper, (general and applied parts) are successively considered, followed by Extraction and Purification of Organic Substances from Natural Products; New Methods of Identification and Determination of Characteristic Groups of the Organic Molecule; Degradation and Demolition Reactions; Spectroscopic Methods; ending with a general Chapter discussing the analytical results that lead to the determination of the constitution of organic substances.

Each chapter is exemplified by some research carried out successfully. Some of those accomplished by the author either at the Instituto Superiore di Sanità (Rome) or during his stay in South America are also included. In every instance, the theoretical background for the method that is described, is previously summarized. Bibliography to each chapter is given, amounting to over 130 references.

Dr. JUAN F. SAREDO: *Systematic simultaneous identification of anions and cations.*

An abstract of, and considerations on, the paper under publication in "Anales de la Facultad de Química y Farmacia" (Parts I and II in Vol. 3, pages 135-160, 1954).

OBJECTIVE. The author aimed at developing a general systematic identification method for the detection of the most current anions and cations. This