

Determinación de glucosuria semicuantitativa mediante tiras de papel reactivo. Estudio comparativo

Oyeledum Abayomi, J. J. Barbería Layana y E. Moncada Lorenzo

Para el adecuado control periódico de la evolución en el diabético, el método usado en la clínica diaria es la dosificación cuantitativa de la glucosa en orina, basado en la reacción de Benedict, que aún cuando no es específico para la glucosa, ya que el viraje de color se realiza en presencia de otros azúcares, sin embargo, su uso se ha generalizado dada su comodidad, rapidez y fidelidad de resultados.

Este método, aun cuando es de sencillo manejo, no puede ser de uso generalizado entre toda la comunidad diabética, dado que la interpretación errónea de dicho análisis por el propio enfermo puede repercutir desfavorablemente en la evolución de su enfermedad.

Con objeto de facilitar el autocontrol del diabético con métodos elementales al alcance de cualquier persona, existen en el mercado procedimientos enzimáticos colorimétricos de fácil interpretación que permiten al diabético espaciar la visita médica y acudir únicamente cuando el resultado del análisis no sea satisfactorio.

Existen varias casas comerciales que han estandarizado el método fundamentado en el mismo principio enzimático, pero con pequeñas diferencias en cuanto a la realización técnica, interpretación de resultados, precio, etc.

El motivo del presente trabajo es el de valorar todos y cada uno de los métodos, considerando en cada uno de ellos sus ventajas e inconvenientes, en comparación con la dosificación cuantitativa de glucosa (reacción de Benedict), para comprobar cuál de ellos, por su bondad, debe ser recomendado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Método de Benedict

Reactivos: Carbonato sódico anhidro, 2 g. Solución de Benedict, 10 ml.

Material.—Erlen-Meyer, 25-50 ml. Mechero. Dos pipetas de 10 y 5 ml, respectivamente.

Técnica.—Se colocan en el Erlen-Meyer 2 g de carbonato sódico anhidro y 10 ml de solución de Benedict.

Se lleva a ebullición y cuando la solución comience a hervir, se añade gota a gota la orina contenida en la pipeta de 5 ml, hasta que el color azul inicial comienza a variar a blanco, anotando la cantidad de orina gastada.

Fundamento.—La solución de Benedict está formada por:

Carbohidrato sódico cristalizado	200 g
Sulfocianuro potásico	120 g
Citrato sódico	200 g
Sol. ferrocianuro potásico al 5 %	5 ml
Sulfato de cobre pentahidratado	18 gr
Agua destilada	1.000 ml

En definitiva no se trata mas que de una solución de sulfato de cobre alcalinizado con bicarbonato sódico, agregándose el citrato de sodio para mantener el óxido cúprico en solución. En presencia de diversos azúcares el óxido cúprico se transforma en cuproso, siendo esta reacción visible mediante el viraje de color (azul a blanco).

Resultados.—Como 10 ml de Benedict son reducidos por 0,02 gr de glucosa, para calcular el número de gramos de la misma, presentes en un litro de orina, realizaremos la siguiente operación:

$$\text{G de glucosa por litro} = \frac{0,02 \times 1.000}{\text{ml de orina gastada}}$$

Métodos enzimáticos

Fundamento.—Se presenta en forma de tiras de papel con una zona reactiva de celulosa impregnada en una mezcla de glucosa oxidasa, peroxidasa y un sistema cromógeno, o bien en forma de pastillas de contenido similar.

La reacción química ocurre de la siguiente forma:

1) La glucosa en presencia de glucosa

oxidasa forma ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.

- 2) Bajo la influencia de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno libera oxígeno que oxida el sistema cromógeno, el cual vira de color.
- 3) Como se puede suponer, la intensidad de viraje viene condicionada por la cantidad de peróxido de hidrógeno formado a su vez, dependiente de la cuantía de glucosa urinaria.

Clinistix

Se sumerge el extremo del reactivo en la orina y se retira enseguida. Se observa el color de esta tira un minuto exactamente más tarde. Con resultado positivo la parte mojada vira a azul en un minuto. El color no cambia con resultado negativo.

Testape

La técnica es similar al método anterior. Cuando existe azúcar en la orina el color amarillo inicial se intensifica virando hacia tonalidad verde cuya intensidad es proporcional a la cantidad de azúcar que existe.

Interoglucosa

En orina reciente se introduce el reactivo siguiendo la dirección de la flecha. Retirado inmediatamente, se observa el cambio de color pasado un minuto. A tenor de la glucosuria existente puede virar progresivamente de blanco a amarillo y a verde.

Clinitest

En el tubo de ensayo adjunto, se dejan caer cinco gotas de orina, añadiendo diez gotas de agua y una pastilla reac-

tiva de Clinitest. Tras hervir 15 segundos, agitar suavemente. Se observa el cambio de color. Con glucosa superior a 20 gr. ‰ hay un cambio brusco a color naranja, seguido rápidamente a una tonalidad oscura. La tabla coloreada adjunta sirve de escala comparativa para la glucosuria inferior a 20 gr ‰

Metódica

Las determinaciones se realizaron simultáneamente en cada orina por todos los métodos descritos. Introduciendo las tiras o pastillas en el recipiente de orina, para después realizar la dosificación cuantitativa de la glucosa por el método de Benedict. A pesar de que la selección de enfermos no creemos influya para variar los resultados, se ha procurado sin embargo que la población sometida a este estudio sea heterogénea en cuanto a edad, sexo, etc., proveniente los enfermos diabéticos de los Servicios de Medicina Interna y Endocrinología del Hospital Clínico, así como de los mismos servicios existentes en la Clínica Universitaria. Los datos recogidos están dispuestos en la tabla I.

RESULTADOS Y OBSERVACIONES

Los resultados observados fueron dispuestos en una gráfica con el método de Benedict en eje de ordenadas, y cada uno de los distintos preparados en eje de abscisa.

Observamos que en cada uno de los preparados, a simple vista, hay correlación lineal con el Benedict cuantitativo. Luego poseen un punto máximo donde ya no hay más discriminación de colores. Es decir, a mayores cifras de Benedict, no existe paralelo aumento de color en los distintos métodos.

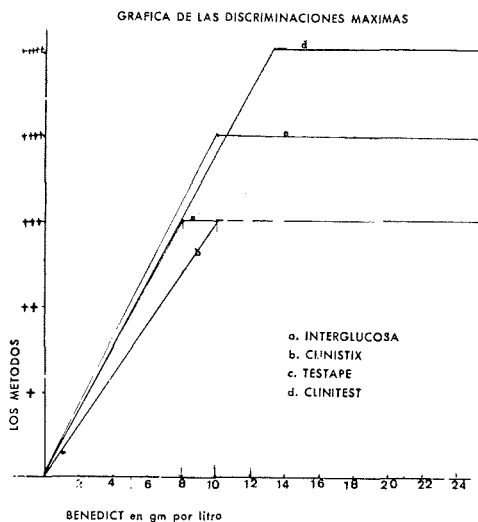
Punto máximo de discriminación de los preparados:

Clinistix	10 g de glucosa por litro.
Testape	10 g por litro.
Interglucosa	8 g por litro.
Clinitest	12 g de glucosa por litro.

De esta observación vemos que el método de Clinitest tiene mayor poder discriminatorio.

En la primera parte de los histogramas vemos que hay una relación lineal entre los preparados y el método exacto de Benedict. Esto nos obliga a calcular el coeficiente de correlación r , $r = \sqrt{b/b'}$, siendo b la pendiente de regresión de la recta de aquel método ideal que es el mismo Benedict; b' representa la pendiente de regresión de las técnicas a valorar.

Antes de llegar a estas cantidades máximas, vemos que hay una relación de dependencia lineal entre cada método y el método de Benedict. Las magnitudes de esta relación lo podemos cuantificar hallando la línea de regresión entre cada preparado y el de Benedict. Para ello se determina la recta alrededor de



la cual la dispersión de los puntos es mínima. En forma general, la ecuación de la línea de regresión es: $y = a + bx$; siendo y el punto donde la recta corta el eje de ordenadas. La suma de todos los valores de y , divididos por el número de determinaciones, es el valor de a ; b es la pendiente de esta línea de mínima dispersión.

$$a = \frac{\Sigma y}{n}$$

Comprende los que están debajo de puntos de máxima discriminación que hemos tomado como 10 gr %, o sea 356

$$a = \frac{356}{53} = 6,7$$

calculando,

$$b = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

tendremos las líneas de regresión (fig. 2).

Ecuaciones de las líneas de regresión:

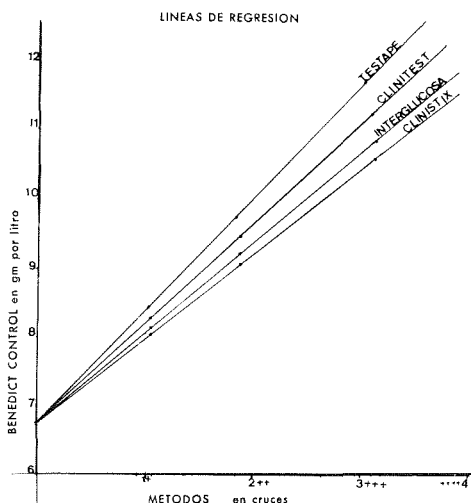
$$\begin{aligned} \text{Clinistix} & y = 6,7 + 1,4 x \\ \text{Testape} & y = 6,7 + 1,7 x \\ \text{Interglucosa} & y = 6,7 + 1,42 x \\ \text{Clinitest} & y = 6,7 + 1,5 x \end{aligned}$$

El coeficiente de correlación nos informa cuál de ellos tiene mayor relación con el Benedict.

$$r = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{\sqrt{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} \sqrt{n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2}}$$

Por sustitución vemos los distintos coeficientes de correlación.

Ya que sabemos la relación entre cada preparado con respecto al método de



Benedict, conviene saber la variación de los valores individuales alrededor de la media de su distribución. Para lo cual, calculando la desviación standard

$$S_x = \frac{\sqrt{\Sigma (x - \bar{x})^2}}{n}$$

$$S_x = \begin{cases} \text{Clinistix} & 0,24 \\ \text{Testape} & 0,02 \\ \text{Intergluc.} & 0,13 \\ \text{Clinitest} & 0,28 \end{cases}$$

Empleamos el método x^2 para calcular la probabilidad e intensidad de dicha asociación.

En la tabla adjunta se expone los resultados del análisis estadístico:

Según dicha tabla se aprecia que todas las técnicas tienen niveles razonables de correlación y asociación con el método de Benedict utilizado como patrón, con sensibles diferencias entre sí.

	Clinistix	Testape	Interg.	Clinitest
Probabilidad de no asociación	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005
b	1,4	1,7	1,47	1,5
r	0,66	0,9	0,5	0,86
Desvío standard	0,24	0,02	0,13	0,28
Poder discriminatorio máximo	10 g	10 g	8 g	12 g