

Dilución de la muestra de sangre para determinar la hiperglucemia con tiras reactivas

ALBERTO C. FRATI-MUNARI,
JORGE GARCÍA-CENTENO,
RAFAEL OSEGUERA-VALLADARES,
HERMENEGILDO DE LA RIVA-PINAL,
ALFONSO FLORES-SOBREVILLA Y
EMILIO LECHUGA-GÓMEZ

CLAVES: Hiperglucemia, diagnóstico rápido, diabetes mellitus, tira reactiva.

Las cintas reactivas han sido poco útiles para determinar cifras muy altas de glucosa sanguínea, aun con instrumentos reflectométricos. Se evalúa un método de dilución (MD), en el que una muestra diluida de sangre capilar (0.3 ml de sangre y 0.7 ml de agua), se lee con una cinta reactiva y el resultado se multiplica por 3.33, comparándolo con una cinta reactiva con doble sistema cromógeno, capaz de medir concentraciones de glucosa de 3.3 a 44.4 mmol/l (60 a 800 mg/dl) y con el método de laboratorio de la ortotoluidina (OT).

Se estudiaron 100 sujetos con hiperglucemia, de los cuales 54 exhibían glucemia mayor de 22.2 mmol/l (400 mg/dl). A todos se les practicaron determinaciones simultáneas de glucosa sanguínea con el MD, con la cinta de doble cromógeno y con OT. Se encontró buena correlación entre MD y OT. En 85 casos las cifras obtenidas con MD difirieron de las de OT, en 5.55 mmol/l (100 mg/dl) o menos. El MD fue más preciso ($P < 0.01$) que la cinta con doble cromógeno. Con esta última no se observó buena correlación con OT, ya que la diferencia entre ambas fue mayor de 5.55 mmol/l (100 mg/dl) en 40 casos. Se concluye que el método de dilución puede ser útil para el manejo de sujetos con hiperglucemia.

Recibido: 14 de abril de 1981.
Aceptado: 7 de julio de 1981.

Todos los autores: Hospital de Especialidades. Centro Médico "La Raza". Instituto Mexicano del Seguro Social.

Durante el tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus descontrolada es necesario medir la glucosa sanguínea rápida y frecuentemente, pero en algunas ocasiones no se dispone de laboratorios clínicos de urgencia, o los resultados se reciben tardíamente. Las cintas reactivas que contienen

glucosa-oxidasa y un sistema cromógeno (ortotoluidina, bencidina, 2,7-diaminofluoreno) pueden medir concentraciones de glucosa entre 0 y 13,8 mmol/l (0-250 mg/dl) en poco tiempo,¹⁻⁴ pero estos límites son poco útiles en el manejo del diabético descontrolado. Para determinar concentraciones mayores de glucosa se han diseñado nuevas cintas reactivas con dos cromógenos (ortotoluidina y 3-amino-9-aminopropilcarbazol dihidrocloruro o APAC),⁵ con las que se pueden medir concentraciones de glucosa entre 3,3 y 44,4 mmol/l (60 a 800 mg/dl), pero su uso aún no se acepta ampliamente por falta de estudios que apoyen su precisión. Los instrumentos electrónicos diseñados para cuantiar la reacción cromática de la cinta reactiva son suficientemente precisos, pero no cuando la glucemia es mayor de 2,2 mmol/l (400 mg/dl).⁶⁻¹¹

En el Hospital de Especialidades se ha utilizado con éxito un método en el que se diluye una muestra de sangre, se mide con una cinta reactiva (con un solo cromógeno) y se multiplica el resultado por el factor de dilución. Con este método se pueden apreciar rápidamente incluso concentraciones muy altas de glucosa sanguínea. El presente estudio evalúa el método de dilución (MD) y la cinta reactiva con doble sistema cromógeno (OT-APAC) comparándolas con el examen de laboratorio convencional practicado con el método de ortotoluidina (OT).

Material y métodos

Se estudiaron 100 sujetos diabéticos hospitalizados en los departamentos de medicina interna y endocrinología. En el momento del estudio todos exhibían tasas de glucosa sanguínea, medidas con cinta reactiva, de 9,7 mmol/l (175 mg/dl) o más.

En cada paciente se practicaron simultáneamente los métodos con cintas reactivas y el de la ortotoluidina. Se obtuvo una gota de sangre capilar por punción digital o del lóbulo de la oreja. Con una pipeta para cuenta de glóbulos blancos se tomaron 0,3 ml de sangre y 0,7 ml de agua. Esta muestra diluida se colocó en un portaobjetos, donde se homogeneizó y se cubrió una tira reactiva (Dextrostix®, Ames Co.); a los 60 segundos exactamente se lavó la cinta con un chorro de agua durante uno o dos segundos, e inmediatamente se comparó el color desarrollado con la escala impresa en la etiqueta del envase. El resultado se multiplicó por 10 y se dividió entre 3, expresándosele en miligramos de glucosa por decilitro. En los casos con glucemia mayor de 41,3 mmol/l (750 mg/dl) se repitió el mismo procedimiento con 0,2 ml de sangre y 0,8 ml de agua y el resultado se multiplicó por 5.

Simultáneamente, con otra gota de sangre capilar obtenida del mismo sitio, se humedeció una tira reactiva con doble cromógeno (OT-APAC); 60 segundos después se removió el exceso de sangre con un algodón seco; dos minutos más tarde se comparó el color en la escala de la etiqueta. In-

mediatamente se obtuvo una muestra de 4 ml de sangre por venopunción, se colocó en un tubo de ensayo sin anticoagulante y se le procesó en menos de 45 minutos con el método de la ortotoluidina.¹² En esta muestra de sangre venosa se efectuaron también el MD y el procedimiento OT-APAC. El análisis estadístico se llevó al cabo con pruebas de correlación y con la prueba "Z" de proporciones, con el paquete estadístico SAS corrido en una computadora IBM 370/40.

Resultados

La correlación entre MD y OT fue satisfactoria, con escasa dispersión (fig. 1); se observó ligera tendencia del MD a lecturas más bajas que con OT. También se observó una tendencia definida a resultados más bajos que los reales (OT) con OT-APAC pero con gran dispersión. Las diferencias entre MD y OT fueron de 3,3 mmol/l (60 mg/dl) o menos en dos tercios de los casos y de 5,55 mmol/l (100 mg/dl) o menos en 85 por ciento de los pacientes (cuadro 1). Estos resultados contrastan, con diferencia estadísticamente significativa, con los obtenidos con OT-APAC; las diferencias entre OT-APAC y OT fueron mayores de 5,55 mmol/l en 40 casos. En 54 pacientes con glucosa sanguínea mayor de 22,2 mmol/l (400 mg/dl), los resultados fueron similares a los encontrados en todos los 100 casos (cuadro 2). La glucemia venosa determinada por tira reactiva dio resultados similares a los obtenidos en la sangre capilar.

Comentarios

La técnica de ortotoluidina mide solamente glucosa, en tanto que otros métodos (incluyendo los propios para autoanализador) incluyen también otros monosacáridos reductores. La tira reactiva a base de glucosa oxidasa también indica cifras verdaderas de glucosa plasmática, ya que aquella es una enzima que específicamente cataliza la oxidación de la glucosa, con ácido gluconico y peróxido de hidrógeno como productos de la reacción. La tira contiene también peroxidasa, gracias a la cual ocurre una reacción entre el peróxido de hidrógeno y un sistema cromógeno, que da un color azul grisáceo, más oscuro a medida que es mayor la concentración de glucosa. La punta reactiva de la tira está cubierta con una membrana que no es permeable a los eritrocitos. Las cintas con doble sistema cromógeno funcionan en forma similar; los cromógenos reaccionan en un orden secuencial, o sea uno después del otro, originando colores diferentes; debido a que los cambios de color constituyen una reacción continua, la tira reactiva debe ser lavada y leída en un tiempo exacto.¹⁻⁵

El método de dilución fue más preciso que la tira de doble cromógeno. Los valores obtenidos con el MD difieren de las cifras reales (OT) en 5,55 mmol/l (100 mg/dl) o menos en 85 por cien-

Cuadro 1. Diferencias entre ortotoluidina (OT) y las tiras reactivas.

Magnitud de la diferencia		Número de casos		Valor de P
mmol/l	(mg/dl)	Método de dilución	Tira con doble cromógeno	
0-1,6	0-30	33	16	NS
1,7-3,3	31-60	68	37	< 0.01
3,4-5,5	61-100	35	21	< 0.01
5,6-8,3	101-150	85	60	
8,4-11,1	151-200	17	23	
11,2-16,5	201-300	10	16	
16,7-22,2	301-400	3	7	
22,3-27,7	401-500		11	
22,75 o más	501 o más	1	3	
		1	1	
			2	

Cuadro 2. Diferencias entre ortotoluidina y las tiras reactivas en 54 casos con glucemia mayor de 22,2 mmol/l (400 mg/dl)

Magnitud de la diferencia		Número de casos		Valor de P
mmol/l	(mg/dl)	Método de dilución	Tira con doble cromógeno	
0-1,6	0-30	11	7	NS
1,7-3,3	31-60	32	16	NS
3,4-5,5	61-100	21	9	< 0.01
5,6-8,3	101-150	42	27	
8,4-11,1	151-200	10	11	
11,2-16,5	201-300	8	6	
16,7-22,2	301-400	2	6	
22,3-27,7	401-500		9	
22,75 o más	501 o más	1	3	
		1	1	
			2	

to de los casos. Si bien esta no es una diferencia pequeña, en el manejo clínico de los diabéticos descontrolados con muy elevada hiperglucemia, es poco importante.

Probablemente muchos de los resultados erróneos obedecen a falta de diseminación cromática o a inexactitud en el tiempo de lectura. La escala de color solamente ofrece siete posibilidades (0, 25, 45, 90, 130, 175 y 250 mg/dl), con intervalos de 20 a 75 mg entre cada una; puesto que el valor obtenido es multiplicado por 3.3, se tiene así una causa de error.

El método de dilución sanguínea usando la tira reactiva de glucosa oxidasa como indicador es suficientemente preciso, rápido y práctico, para ser

usado en el manejo del estado hiperglucémico, junto a la cama del paciente, en servicios de urgencias, y en cualquier circunstancia en que no se disponga de un laboratorio que proporcione resultados exactos a plazo corto.

REFERENCIAS

1. Cohen, S. L.; Bird, R. y Legg, S.: *A bedside method of blood glucose estimation*. Lancet 2:883, 1964.
2. Rennie, I. D. B. y Keen, H.: *A rapid enzyme-strip method for estimating blood sugar*. Lancet 2:884, 1964.
3. Schersten, B.: *Clinical evaluation of a rapid enzyme strip method (Dextrostix) for blood glucose estimation*. Acta Med. Scand. 173:583, 1965.

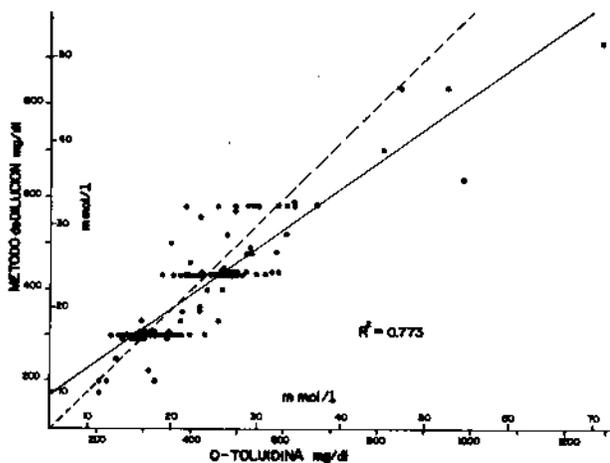


Fig. 1. Correlación entre la concentración de glucosa obtenidas con el método de dilución y con el método de laboratorio de la ortotoluidina.

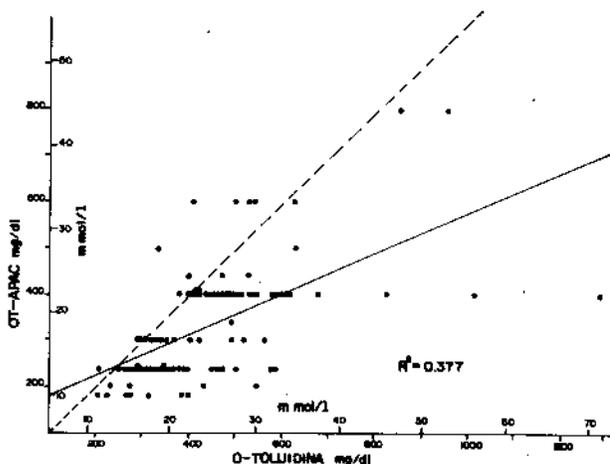


Fig. 2. Correlación entre la concentración de glucosa obtenida con la tira con doble cromógeno (OT-APAC) y con el método de laboratorio de ortotoluidina.

4. Stewart, T. G.: *Evaluation of a test strip for blood glucose determination vs. hexokinase method.* Clin. Chem. 22:56, 1976.
5. Kutter, D.: *Tests rápidos en el diagnóstico clínico.* Barcelona, Toray, S. A., 1976, p. 33.
6. Jarrett, R. J.; Keen, H. y Hardwick C.: *Instant blood sugar measurement using Dextrostix and a reflectance meter.* Diabetes 19:724, 1970.
7. Mazzaferri, E. L.; Skillman, T. G.; Lanese, R. R. y Keller, M. P.: *Use of test strip with color meter to measure blood glucose.* Lancet 1:331, 1970.
8. Junker, K. y Ditzel, J.: *Inaccuracy of test strips with reflectance meter in determination of high blood-sugar.* Lancet 1:815, 1972.
9. Schersten, B.; Kuhl, C. y Hollander, K.: *Measuring blood glucose with Dextrostix Eyetone (reflectance meter).* Br. Med. J. 3:384, 1974.
10. Holmes, P. y Kühl, C.: *Serum glucose determination with Dextrostix and the Eyetone Reflectance Meter.* Acta Med. Scand. 200:297, 1976.

11. West, T. E. T.: *Evaluation in clinical practice of Dextrostix and the Eyetone Reflectance Meter.* Diabetes Metab. 3:165, 1977.
12. Dubowski, K. M.: *O-toluidine method to measure blood glucose.* Clin. Chem. 8:215 y 592, 1962.

AGRADECIMIENTOS

A la señorita Maura E. Rosas Landín por su colaboración en la determinación de glucosa con el método de ortotoluidina y al señor Hugo Tudón, analista en sistemas del Departamento de Informática del Instituto Mexicano del Seguro Social, por su importante labor en el análisis estadístico.