

HOSPITAL CLINICOQUIRURGICO SANTOS SUAREZ

Determinación de glucosa. Estudio comparativo de dos métodos

Dr. Asterio Pérez Regidor

Pérez Regidor, A.: *Determinación de glucosa. Estudio comparativo de dos métodos.*

Se hace un estudio, en nuestro laboratorio, basado en la determinación simultánea de 6 000 glicemias, 3 000 con el método de la glucosa-oxidasa y 3 000 con el método de la ortotoloidina, y se demuestra que ambos métodos son útiles para la determinación de glicemia y que aunque en los dos métodos la determinación se realiza directamente sobre el suero, el método de la glucosa-oxidasa es el recomendable, pues es más específico, menos laborioso y menos tóxico que el método de la ortotoloidina. Se informa que ambos métodos utilizan reactivos de importación.

INTRODUCCION

La determinación de glucosa en sangre (glicemia) u otro líquido biológico es una de las investigaciones más frecuentes y de mayor importancia en la práctica diaria del Laboratorio Clínico.

Existen diferentes métodos para realizar esta investigación, unos inespecíficos porque actúan sobre la molécula de glucosa y además sobre otros azúcares presentes en la muestra, entre estos métodos inespecíficos algunos necesitan de la realización previa de un filtrado libre de proteínas y otros no, en este último grupo está el método de la ortotoloidina.¹⁻³ Los métodos específicos son aquellos que actúan sólo sobre la molécula de glucosa, un ejemplo de ello lo tenemos en el método enzimático de la glucosa-oxidasa⁴⁻⁶ que por otro lado, es en nuestro medio, el método que más se utiliza.

Este trabajo está basado en la comparación de dos métodos para la determinación de glucosa en sangre (glicemia), uno específico, el método enzimático de la glucosa-oxidasa y otro inespecífico, el método de la ortotoloidina.

Según lo encontrado por nosotros en el estudio investigativo realizado al respecto, así como al compararlo con la experiencia internacional acumulada en tal sentido,⁷ se puede

24 Especialista de I Grado en Laboratorio Clínico. Jefe de Servicio del Laboratorio Clínico y Transfusiones.

afirmar que es aceptado que ambos métodos son útiles para la determinación de glicemia.

El objetivo de este estudio comparativo es ofrecer una fundamentación teórica y práctica para optar por uno u otro método en determinadas circunstancias que pudieran ser biológicas o de recursos materiales. En nuestro medio se ha trabajado poco con el método de la ortotoloidina, por lo que se considera que este estudio aportaría elementos técnicos que resultarán de interés para todos.

MATERIAL Y METODO

Muestra: Suero.

Cristalería: Tubos de ensayo de diferentes graduaciones, pipetas de diferentes graduaciones, pipeta de Sahli.

Equipos: Centrífuga, baño de maría con graduación para 100° Celsius, fotocolorímetro ERMA Modelo AE-11.

Reactivos: Stock de reactivos para GOD:

- GOD LPU (reactivo de color).
- Patrón de glucosa, 103 mg % (Precinorm).

Stock de reactivos para 0-Toloidina:

- Tiurea calidad reactivo.
- Acido acético glacial.
- 0-Toloidina, LPV (reactivo color).
- Patrón de glucosa 103 mg % (Precinorm).

Se realizaron 6 000 determinaciones de glucosa en sangre (glicemia) simultáneamente, 3 000 con el método de la ortotoloidina^{7,9} y 3 000 con el método de la glucosa-oxidasa.^{10,11} Toda la investigación se realizó en las condiciones habituales de trabajo de nuestro laboratorio.

Las lecturas se realizaron con un fotocolorímetro ERMA AE-11, se usó blanco de agua destilada, para la glucosa-oxidasa se utilizó la longitud de onda de 530 nm y para la ortotoloidina la de 620 nm. Los valores de las glicemias realizadas por ambos métodos (expresados en mg %) se anotaron cuidadosamente y se clasificaron por grupos de acuerdo con su valor y posteriormente todos esos datos primarios fueron procesados y se expusieron en los resultados de este trabajo.

RESULTADOS

La tabla 1 muestra los valores en mg % que se obtuvieron en la realización de 6 000 glicemias, 3 000 con el método de la glucosa-oxidasa y 3 000 con el método de la ortotoloidina, se expone además la media aritmética (en mg %) de las 3 000 glicemias realizadas con cada método.

El rango normal aceptado para ambos métodos es de 60 a 100 mg %.

Método de la glucosa-oxidasa			Método de la ortotoloidina		
Valor en mg %	Número	%	Valor en mg %	Número	%
20-29	0	0	20-29	0	2
30-39	0	0	30-39	0	0
40-49	9	0,3	40-49	6	0,2
50-59	36	1,2	50-59	32	1,0
60-69	546	18,2	60-69	520	17,4
70-79	978	32,6	70-79	970	32,4
80-89	579	19,3	80-89	613	20,5
90-99	273	9,1	90-99	280	9,3
100-119	189	6,3	100-119	180	6,0
120-139	84	2,8	120-139	93	3,1
140-159	78	2,6	140-159	65	2,1
160 o más	228	7,6	160 o más	241	8,0
Total	3 000	100 %		3 000	100%

x = 84 mg %.

x = 87 mg %

La tabla 2 muestra la media aritmética (en por ciento de transmisión), desviación típica y coeficiente de variación del patrón de glucosa de 103 mg % (Precinorm) para el método de la glucosa-oxidasa y el de la ortotoloidina, respectivamente.

Tabla 2.
Patrón de glucosa de 103 mg % (Precinorm)
Lectura en por ciento

de transmisión	Método de la glucosa-oxidasa	Método ortotoloidina
Media aritmética (x)	30 % de transmisión	27 % de transmisión
Desviación típica (DS)	0,76	0,82
Coeficiente de variación	(CV) 2,5 %	3,0 %

DISCUSION

Los resultados obtenidos demuestran que ambos métodos son útiles para la determinación de glucosa en sangre y tienen la ventaja de que no necesitan la realización de un filtrado libre de proteínas (FLP), sino que se realizan partiendo directamente del suero o plasma, también se pueden realizar partiendo de la sangre total,¹² pero nosotros no utilizamos estas dos últimas variantes (plasma y sangre total) para nuestro trabajo sino solamente suero, aunque el método de la GOD es específico y el de la ortotoloidina no lo es, ya que

además de la glucosa detecta las aldosas,¹ de las sustancias presentes en la sangre solamente la galactosa, además de la glucosa, dan un color verde;^{1,2} sin embargo, una alteración en la determinación de glucosa por galactosa puede ser vista solamente en la galactosemia,^{1,3} aunque ésta es una enfermedad rara, en aquellos pacientes que se sospeche o que se les haya diagnosticado previamente padecen de galactosemia, o haya que hacerles una prueba de galactosa entonces la determinación de glicemia se debe hacer con el método enzimático,^{4,5} la misma medida se debe tomar cuando se le hayan administrado grandes cantidades de dextrana intravenosa al paciente, pues la dextrana reacciona con la ortotoloidina produciendo turbidez.^{4,5}

Aunque *Hultman*¹ describió la técnica de la ortotoloidina como un procedimiento simple para determinar glucosa, nosotros en este trabajo hemos comprobado que la técnica de la ortotoloidina es mucho más engorrosa, laboriosa y tóxica que la técnica de la GOD.⁴ Por otro lado, a pesar que se ha planteado que el reactivo de la GOD es irritante de la piel al ponerse en contacto con la misma y que no debe pipetarse con la boca porque puede producir irritación de la mucosa oral y de las vías respiratorias altas, nosotros en este trabajo no hemos encontrado ni éstas ni otras manifestaciones de la toxicidad con dicho reactivo.¹³

La toxicidad encontrada por nosotros en este trabajo con la técnica de la ortotoloidina, a que hemos hecho referencia estuvo dada por lo siguiente: el reactivo de la ortotoloidina tiene que ser diluido en ácido acético glacial, como establece la técnica, ello implica que al pipetarse con la boca se produzca una irritación de la mucosa oral y mucosas de las vías respiratorias altas, así como irritación ocular e incluso en el transcurso de la realización de este trabajo la técnica que montó las glicemias tuvo que utilizar guantes ya que el dedo pulgar derecho, con el cual se controla el envase y salida de reactivo de la pipeta, sufrió quemaduras ligeras que provocaron flictenas en el mismo; por ello nosotros recomendamos que para realizar esta técnica se utilice además de una campana de extracción pipetas automáticas. Por otro lado, el hecho de tener que incubar a ebullición (100 °C) en baño de maría y después enfriar con agua helada convierte a esta técnica en una técnica engorrosa que complica sobremedida el trabajo del técnico o analista que la realiza. En contraposición a esta realidad la técnica de la GOD se convierte en un método simple, eficaz y casi inocuo para realizar glicemias.

El tiempo empleado para realizar la técnica de la ortotoloidina es menor en 15 aproximadamente que el tiempo empleado para realizar la técnica de la GOD, ya que esta última nosotros la realizamos a la temperatura ambiente (25° Celcius aproximadamente), con lo cual tenemos que esperar 30 para proceder a su lectura. Se debe señalar que si la técnica de la GOD la hubiéramos realizado incubando en baño de maría a 37° Celsius, entonces el tiempo de incubación se hubiera reducido de 30' a 15'.

Se demuestra además que la sensibilidad de ambos métodos es buena, pues la media aritmética (\bar{x}) de todas las determinaciones de glucosa hechas con el método de glucosa-oxidasa no presentó diferencias significativas con la media aritmética (\bar{x}) de todas las determinaciones realizadas con el método de la ortotoloidina como se puede observar en la tabla 1.

También se pone de manifiesto al analizar la tabla 2 que la media(x), la desviación típica (DS) y el coeficiente de variación (CV) del patrón de glucosa utilizado (Precinorm, 103 mg % de glucosa), no presentan diferencias significativas entre ambos métodos.

El coeficiente de variación (CV) para ambos métodos está dentro de los límites aceptados para el control de calidad establecido.¹⁴

Desde el punto de vista económico se puede decir que los reactivos que se utilizan para ambos métodos son de importación.

CONCLUSIONES

1. Ambos métodos (el de la glucosa-oxidasa y el de la ortotolidina) son útiles para la determinación de glucosa en suero (glicemia).
2. La sensibilidad de ambos métodos es buena, aunque la técnica de la glucosa-oxidasa es específica y la de la ortotolidina no lo es.
3. La exactitud y precisión de ambos métodos no presentan diferencias significativas.
4. La toxicidad es significativamente mayor con el método de la ortotolidina que con el método de la glucosa-oxidasa.
5. El tiempo que se emplea en la realización de la técnica de la ortotolidina es ligeramente menor que el que se emplea habitualmente en la realización de la técnica de la glucosa-oxidasa.
6. La complejidad de los pasos técnicos que se deben efectuar con el método de la ortotolidina lo hace más trabajoso y engorroso que el método de la glucosa-oxidasa.
7. Ambos métodos utilizan reactivos de importación.

SUMMARY

Pérez Regidor, A.: *Glucose determination. Comparativo study of two methods.*

In our laboratory, a study is carried out based on simultaneous determination of 6 000 glycemia tests, 3 000 by glucose-oxidase method and 3 000 by O-Toluidine method. and it was demonstrated that both methods are useful for glycemia determination and although in both methods determination is performed directly on the serum, the glucose-oxidase method is the one recommended because is the most specific, less arduous and less toxic than the O-Toluidine method. It is reported that both methods use imported reagents.

RÉSUMÉ

Pérez Regidor, A.: *Dosage du glucose. Etude comparative de deux méthodes.*

Il est réalisé une étude basée sur la détermination simultanée de 6 000 glycémies, dont 3 000 par la méthode de la glucose-oxydase et 3 000 par la méthode de l'orthotolidine. Il est démontré que les deux méthodes sont utiles pour le dosage du glucose, et que quoique dans les deux méthodes le dosage soit réalisé directement sur le sérum, la méthode recommandable est celle de la glucose-oxydase, puisqu'elle est plus spécifique, plus simple et moins toxique que la méthode de l'orthotolidine. Il est signalé que les deux méthodes emploient des réactifs d'importation.

BIBLIOGRAFIA

1. *Hultman, O*: O-Toluidine method sugar determination. *Nature* 183: 108, 1959.
2. *Dubowski, K. M.*: O-Toluidine method sugar determination. *Clin Chem* 8: 215, 592 1962.
3. *Hyvarinen, A. et al.*: O-Toluidine method sugar determination. *Clin Chem* 7: 140, 1962'
4. *Hártel, A.*: Enzimatic sugar determination (GOD-method). *Arztl Lab* 14: 183, 1968.
5. *Hartel, A. et al.*: Enzimatic sugar determination (GOD-method). *Clin Biochem* 6- 34 1968.
6. *Parrott, L. H.*: Quantitative blood sugar determination. *Am J Clin Pathol* 49: 877, 1968.
7. *Bergström, J.; E. Hultman*: O-Toluidine method sugar determination. *Nature* 198' 97 1963.
8. *fielander, A.*: O-Toluidine method sugar determination. *Scand J Clin Lab Invest* 15 218, 1963.
9. *Mehnert, H.*: O-Toluidine method sugar determination. *Dtsch. Med Wochenschr* 91 744, 1966.
10. *Mazzaferri, E. L. et al.*: Quantitative blood sugar determination. *Lancet* 1: 331, 1970.
11. *Otto, H. et al.*: Quantitative blood sugar determination. *Dtsch Med. Wochenschr* 93- 1183, 1968.
12. *Hoffman, H. H.; H. Daweke*: Quantitative blood sugar determination. *Med Klin* 65- 1451, 1970.
13. *Werner, W. H. et al.*: Enzimatic sugar determination (GOD-method). *Z Analyt Chem* 27: 252, 1970.
14. *Klauss, I.*: Principios de metodología en Bioquímica Clínica. La Habana, Ed. Instituto Cubano del Libro, 1973.

Recibido: 6 de febrero de 1985 Aprobado: 20 de febrero de 1985

Dr. *Asterio Pérez Regidor* Independencia No. 325 Bloque J-4. Reparto Martí Municipio Cerro Ciudad de La Habana Cuba