

Determinación del CO₂ total en sangre periférica por micrométodo.

GOMEZ Jaime*, **SAENZ Julio ****, **ESTREMADOYRO Luis*****, **BENITO Germán******, **MIYAHIRA Juan*****, **CIEZA Javier *****

* Bachiller en Medicina. Universidad Peruana Cayetano Heredia

** Tecnólogo Médico. Laboratorio de Investigación de Nefrología, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

*** Médico Asistente, Servicio de Nefrología. Hospital Nacional Cayetano Heredia. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

**** Jefe de Laboratorio de Investigación de Nefrología. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

SUMMARY

In order to validate a titration micromethod for total blood CO₂ (TCO₂) determination, we performed two studies. The first compares, in 50 healthy adults (GROUP 1A), the TCO₂ values obtained with the Scribner's conventional titration method and the micromethod. It compares this same values in 50 adult patients from chronic intermittent hemodialysis programs (GROUP 1B) too. In the second study we compare the TCO₂ values obtained with the micromethod and the arterial bicarbonate concentration obtained by arterial gas analysis. We don't find any significant difference between the TCO₂ determination by both titration methods in GROUP 1A (Scribner: 27.83 ± 2.44 mEq/L, micromethod: 27.82 ± 2.37 mEq/L; $p=ns$, ANOVA) and in GROUP 1B (Scribner: 19.70 ± 2.06 , micromethod: 19.42 ± 1.96 mEq/L; $p=ns$, ANOVA). Correlation between values obtained by both methods was highly significant: GROUP 1A: $r=0.95$, $p<0.001$; GROUP 1B: $r=0.78$, $p<0.001$. The correlation between the values obtained in GROUP 2 was highly significant, too ($r=0.74$, $p<0.001$). We underline the importance of reporting the micromethod results as the mean of three distinct readings in the same sample. We recommend the determination of OTC₂ by micromethod as a useful clinical tool in the evaluation of the acid-base status. (Rev Med Hered 1994; 5: 187-191).

KEY WORDS: Total blood CO₂, micromethod.

RESUMEN

Con el objetivo de validar un micrométodo de determinación del CO₂ total sanguíneo por titulación se realizaron dos estudios. El primero compara, en 50 adultos clínicamente sanos (GRUPO 1A), los valores de CO₂ total obtenidos por el método de titulación convencional de Scribner con los del micromicrométodo. Además, se comparan los mismos valores en un grupo de 50 pacientes de programas de hemodiálisis crónica intermitente (GRUPO B). El segundo estudio compara los valores de CO₂ total obtenidos por micromicrométodo de titulación con la determinación de la

concentración arterial de bicarbonato por análisis de gases arteriales en 50 pacientes en hemodiálisis crónica intermitente (GRUPO 2). No encontramos diferencias significativas entre las determinaciones del CO₂ total por ambos métodos de titulación, tanto en el GRUPO 1A (Scribner: 27.83 ± 2.44 mEq/L, micrométodo : 27.83 ± 2.37 mEq/L; p=ns, ANOVA) como en el 1B (Scribner: 19.70 ± 2.06 mEq/L, micrométodo: 19.42 ± 1.96 mEq/L; p=ns, ANOVA). La correlación entre los valores obtenidos por ambos métodos de titulación fue altamente significativa: GRUPO 1A: R=0.95, P<0.001; GRUPO 1B: r=0.78, p<0.001. También resultó estadísticamente significativa la correlación entre los valores comparados en el GRUPO 2 (r=0.74, p<0.001). Se remarca la importancia de informar el resultado del micrométodo como el promedio e tres lecturas distintas en la misma muestra. Recomendamos la determinación del CO₂ total por micrométodo como método auxiliar clínicamente útil en la evaluación del estado ácido-básico. (Rev Med Hered 1994; 5: 187-191).

PALABRAS CLAVES: CO₂, total, micrométodo.

INTRODUCCION

El estudio del estado ácido-básico es fundamental para el diagnóstico y tratamiento de los pacientes hospitalizados, especialmente en pacientes gravemente enfermo. El estado ácido-básico está determinado por la concentración de iones hidrógeno en los líquidos orgánicos. Cambios ligeros de la concentración normal de hidrogeniones, causan alteraciones marcadas en el metabolismo celular (1,2).

El método considerado patrón de oro para la evaluación del equilibrio ácido-básico es el análisis de gases arteriales (AGA). El AGA permite evaluar distintos parámetros del equilibrio ácido-básico (pH, concentración de bicarbonato, presión parcial de CO₂, exceso de bases) y de oxigenación de la sangre arterial (presión parcial de O₂ y saturación de hemoglobina). Esta determinación requiere de un analizador de gases arteriales que, por tener un costo elevado, no está al alcance de la mayoría de hospitales del país. Además, la obtención de la muestra debe hacerse por punción arterial, técnica que no está exenta de complicaciones (3).

Una alternativa para la determinación de la concentración de bicarbonato es la determinación del CO₂ total (CO₂T). Este representa la suma de las concentraciones sanguíneas de bicarbonato, ácido carbónico y CO₂ disuelto. Los dos últimos compuestos comprenden normalmente menos del 5% del CO₂T (1.0-1.2 mEq/L), por lo que resulta ser una estimación clínicamente útil de la verdadera concentración de bicarbonato sanguíneo (4).

El método convencional para la determinación del CO₂T presenta algunos inconvenientes como la necesidad de un volumen significativo de muestra, reactivos, cristalería y otros materiales de laboratorio así como el empleo de tiempo relativamente largo (5,6,7).

Como alternativa proponemos un micrométodo de titulación del CO₂T, bajo los mismos principios que el método convencional, pero con la diferencia de que los volúmenes con los cuales se trabajarán son hasta 10 veces menores, tanto para la muestra como los reactivos. El micrométodo permitirá también ahorrar tiempo por la mayor rapidez del procesamiento de la muestra..

El objetivo del presente trabajo es validar el micrométodo de titulación de CO₂T, tanto en pacientes sanos como en situación de acidosis metabólica a través de:

La comparación de la precisión de la microtitulación de CO₂T con la del método convencional tanto en personas normales como en pacientes con acidosis metabólica.

La comparación de los resultados de la determinación del CO₂T por microtitulación con la concentración sanguínea de bicarbonato obtenida por análisis de gases arteriales en pacientes con acidosis metabólica.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo consta de dos estudios, diseñados cada uno para responder a los objetivos planteados anteriormente.

ESTUDIO 1:

En 50 pacientes clínicamente sanos (GRUPO 1A) así como en 50 pacientes con alto riesgo de presentar acidosis metabólica (GRUPO 1B), se determinó el CO₂T por los métodos convencional y de microtitulación. Se comparó los resultados de ambos métodos.

El GRUPO 1A estuvo formado íntegramente por pacientes adultos (>18 años), de ambos sexos, consideradas clínicamente sanos y aptos para donar sangre en el Servicio de Hemoterapia del Hospital Central de la Policía Nacional de Perú entre los días 13 y 24 de setiembre de 1993.

El GRUPO 1B, en cambio, estuvo integrado por pacientes adultos de ambos sexos de programas de hemodiálisis crónica intermitente. Se estudió a la totalidad de pacientes del programa de hemodiálisis del Servicio de Nefrología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (36 pacientes) y se completó la muestra con 14 pacientes del programa de hemodiálisis de la Clínica San Felipe, seleccionados al azar.

De los 100 pacientes se obtuvo, previo consentimiento, una muestra de 5 cc de sangre (venosa en los pacientes del GRUPO 1^a y obtenida de la línea arterial en el GRUPO 1B). La muestra de sangre de este último grupo fue obtenida inmediatamente antes de inicial la sesión de hemodiálisis, momento en el que están en mayor riesgo de presentar acidosis metabólica (5,6).

En cada una de las muestras se determinó el CO₂T tanto por el método convencional de Scribner (7,8,9) como por microtitulación. El principio de ambos métodos consiste en la titulación del ácido residual de la muestra problema, con hidróxido de sodio. La muestra previamente es expuesta a una cantidad medida de ácido nítrico valorado.

El micrométodo de titulación requiere de un agitador magnético y una jeringa de Hamilton y se desarrolla de la siguiente manera:

Colocar en una lámina escabada: 0.1 ml de muestra (plasma o suero), 0.1 ml de ácido nítrico 0.1 N y 1 gota de rojo de fenol (indicador).

Llevar la lámina al agitador magnético y dejar mezclar por 30 segundos.

Titular la muestra haciendo caer gota a gota, con la jeringa de Hamilton, una solución de hidróxido de sodio 0.1N hasta observar el viraje del color amarillo inicial al rosa que indica el final de la reacción.

Anotar la cantidad de hidróxido de sodio utilizada.

El método mide la cantidad de ácido requerido para liberar todo el CO₂T de la muestra. Dicha cantidad se obtiene mediante la diferencia entre la cantidad de ácido nítrico utilizada y la de hidróxido de sodio requerida para regresar al pH inicial de la muestra problema. Para expresar los resultados se utiliza la fórmula:

CO₂T (mEq/L)= 100 – microlitros de NaOH 0.1N utilizados.

Se realizaron tres determinaciones por cada método (convencional y microtitulación) en cada una de las muestras del GRUPO 1A, considerándose como resultado de la muestra al promedio de las tres determinaciones. En el GRUPO 1B se hicieron determinaciones únicas por ambos métodos en todas las muestras.

ESTUDIO 2:

Se llevó a cabo teniendo como población de estudio a 50 pacientes adultos de ambos sexos del programa de hemodiálisis crónica intermitente del centro privado Servicios Médicos Corpac S.A. (GRUPO 2).

En todos los pacientes se tomaron dos muestras de la línea arterial antes del inicio de la sesión de hemodiálisis: una de 5 ml para la determinación por triplicado del CO₂T por el método de microtitulación descrito anteriormente y otra de 0.5 ml obtenida con jeringa heparinizada y en condiciones de anaerobiosis para el AGA . Esta última muestra fue colocada en un recipiente con hielo y llevada para su análisis en un analizador de Gases arteriales Ciba Corning 238, en un plazo no mayor de 2 horas después de obtenida (3).

Los resultados de ambos estudios se expresan como media arimética \pm 1DS, analizándose las diferencias entre métodos por ANOVA. Cuando se comparan dos métodos por correlación lineal, se obtuvo la significancia estadística del coeficiente de Pearson de tablas publicadas para tal fin (10). Se utilizó el paquete estadístico EPI-INFO V.3.0 y se aceptó como significativo un $p < 0.05$.

RESULTADOS

El cuadro N°1 muestra las características generales de todos los pacientes estudiados.

En el grupo 1A el CO₂T fue de 27.83 ± 2.44 mEq/L con el método convencional y 27.82 ± 2.37 mEq/L con la microtitulación ($p=ns$, ANOVA). En el grupo 1B fue de 19.70 ± 2.06 mEq/L con el convencional y 19.42 ± 1.96 mEq/L con microtitulación ($p=ns$, ANOVA).

La figura N°1 muestra la relación, en forma de regresión lineal, entre los valores del CO₂T obtenidos por ambos métodos en el GRUPO 1A (r=0.95, p<0.001), mientras que la figura N°2 muestra la misma relación para los resultados obtenidos en pacientes del GRUPO 1B (r=0.78, p<0.001).

El promedio de las tres determinaciones de CO₂T hechas por microtitulación en los pacientes del grupo 2 fue de 16.64 ± 2.96 mEq/L y del bicarbonato arterial medido por AGA de 17.18 ± 2.29 mEq/L (p<0.001, ANOVA). La figura N°3 muestra el histograma de frecuencia para los valores de cada una de las tres determinaciones del CO₂T por micrométodo y del bicarbonato arterial medido por AGA en los pacientes del GRUPO 2.

La correlación entre el bicarbonato arterial y el valor promedio de las tres lecturas de CO₂T medido por micrométodo en el GRUPO 2, se muestra en la figura N°4. En el se muestran la línea de correlación y los intervalos de confianza de 95%, (r=0.74, p<0.001). La línea de identidad representa los valores teóricos de CO₂T esperados para cada valor de bicarbonato arterial, calculados a partir de la fórmula:

$$\text{CO}_2\text{T} = [\text{HCO}_3] \text{ en mEq/L} + (0.03) \text{ PaCO}_2 \text{ en mmHg}$$

Considerándose como valor de la PaCO₂ al promedio observado en los 50 determinaciones de AGA y que resultó ser 32.6 mmHg.

La correlación entre el bicarbonato arterial y cada una de las tres lecturas individuales del CO₂T fue también estadísticamente significativa (p<0.001), pero con constantes de correlación menores que el encontrado con la lectura promedio (1ª lectura: r= 0.66, 2ª lectura: r=0.69 y 3ª lectura: r=0.67).

DISCUSION

Para mejorar el tratamiento de pacientes críticos es indispensable que el médico disponga de algún método auxiliar que le permita hacer una evaluación objetiva del estado ácido-básico (1,2). Siendo aún escasos en muchas regiones del país los analizadores de gases arteriales debido a su alto costo, proponemos la determinación del CO₂T por microtitulación como alternativa.

Con el micrométodo de titulación se utilizan volúmenes de muestra y de reactivos 10 veces menores al método convencional y el tiempo empleado en la determinación de cada muestra es significativamente menor (2-3 minutos contra 5-6 minutos), lo cual simplifica y hace menos costoso el procedimiento.

En el presente trabajo mostramos que las lecturas del CO₂T obtenidas con el método convencional y de microtitulación son similares tanto en pacientes adultos normales como en pacientes adultos con acidosis metabólica.

Al compara los valores obtenidos por ambos métodos se comprueba su similitud, confirmada al no encontrarse diferencia estadísticamente significativa entre ambos. La comprobación de la similitud entre las medidas de centralización nos mpermite afirmar que el micrométodo de titulación está libre de sesgo, tanto para personas normales como

para pacientes portadores de acidosis metabólica. Del mismo modo, la similitud entre las medidas de dispersión permite afirmar que ambos métodos tienen la misma precisión.

El coeficiente de correlación fue algo menor en el GRUPO 1B en comparación con la obtenida en el GRUPO 1A lo cual probablemente se deba al hecho de haber repetido la determinación por tres veces en este último grupo y no haberlo hecho así en el grupo de pacientes con insuficiencia renal crónica.

En la segunda parte del presente trabajo mostramos que el CO₂T medido por microtitulación es un valor clínicamente útil y válido por ser una aproximación bastante cercana al valor de la concentración sanguínea de bicarbonato obtenida por AGA.

Es importante recalcar la importancia que tiene repetir la lectura del CO₂T por tres veces y reportar como resultado el valor promedio, para disminuir el rango de variación cuando sea necesario analizar resultados para un paciente individual. Esta conclusión se basa en la observación de haber encontrado menor dispersión y mejor correlación entre los valores de la lectura promedio del CO₂T y el bicarbonato arterial, que entre este último y cualquiera de las lecturas individuales del CO₂T.

Encontramos que para valores menores de 18 mEq/L de CO₂T, la línea de identidad no está dentro del intervalo de confianza del 95% de la línea de correlación. Explicamos esto por la naturaleza semicuantitativa del micrométodo, donde la determinación del viraje de color está sujeto a la subjetividad y experiencia del observador. Esto constituye un sesgo propio de todos los métodos semicuantitativos. Para evitar este sesgo sería recomendable estandarizar el método usando, por ejemplo, un fotómetro.

En base a los resultados obtenidos, recomendamos el uso de la determinación de CO₂T por microtitulación como método auxiliar objetivo y clínicamente válido en la evaluación del estdo ácido-básico, sobre todo cuando no se dispone de un analizador de gases sanguíneos.

Agradecimiento:

Dr. Luis Estremadoyro S.
Servicio de Nefrología, Universidad Peruana Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado 430
Urb. Ingeniería, San Martín de Porres
Lima – Perú

BIBLIOGRAFIA

1. Narins RG. Acid-base disorders: Introductory concepts. En: Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism. Maxwell M (ed). Mc Graw HillBook Company. New York. 1987, pp 585-595.
2. Rose BD. Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders. Mac Graw Hill Information Services Company. New York. 1994, pp 503-512.
3. Shapiro A, Harrison A, Cane R. Manejo clínico de los gases sanguíneos. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1991.

4. Kravath RE. Blood gases, hydrogen ion and pH. En: Water and electrolytes in Pediatrics. Finberg L, Kravath RE, Hellerstein S (ed). WB Saunders Company. Philadelphia. 1993, pp 88-106.
5. Gennari J. Acid-base balance in dialysis patients. *Kidney Int* 1985; 28: 678-688.
6. La Greca G, Fabris A, Feriani M, et al. Acid-base homeostasis in clinical dialysis. En: Replacement of renal function by dialysis. Maher JH (ed). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston Lancaster. 1988, pp 807-815.
7. Guerci A. Método e interpretación del Laboratorio Clínico. El Ateneo. Buenos Aires. 1985 pp 176-180.
8. Lynch MJ, Raphael SS. Métodos de Laboratorio. Nueva Editorial Interamericana. México. 1989, pp 419-425.
9. Sonnenwirth AC, Jarett L. Métodos y diagnóstico del laboratorio clínico. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1986, pp 321-332.
10. Colton T. Estadística en medicina. Salvat editores. Barcelona. 1979.