



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN
DE GLUCOSA SERICA Y HEMOGLOBINA
GLUCOSILADA EN PACIENTES CON
DIABETES MELLITUS TIPO II”.

TRABAJO PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A:

FELIPA BALTAZAR RUEDA

ASESOR: QFB. MA. GUADALUPE REBOLLAR BARRERA.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mis padres Otilio y Juana.

Gracias por darme la vida, por su amor, por las caricias, por las sonrisas, por los regaños y por el aliento.....

Gracias por enseñarme a crecer, a través del sufrimiento, curándome las heridas y consolándome en mis lamentos....

Gracias por el ejemplo de la honradez, del entusiasmo y la calidez, por los regaños y desacuerdos, por las verdades y descontentos.....

Gracias por enseñarme a dar de intensa forma y nada esperar, por los consejos y las caídas, por enseñarme como es la vida....

Gracias por estar a mi lado en el momento justo y el más anhelado, cuando necesito sentir sus besos y abrazos y escuchar un te quiero y un te amo.....

Gracias con todo mi corazón, por ser como son, por que Dios no pudo escoger de una manera mejor, a mis padres, los amo.

A mis hermanos Rubén, Felipe y Lupita, los quiero mucho, saben que esto es gracias a ustedes, son los mejores hermanos y los mas grandes amigos con los que puedo contar.

A mi sobrino Gael, corazón, tú me has enseñado que una pequeña sonrisa puede curar cualquier cansancio y cualquier enojo. Gracias por tu cariño.

A todos mis tíos, primos y a mi cuñado, saben que esto fue difícil pero por fin, lo logre.

A esos ángeles que Dios me dio, por que se que desde arriba siempre cuidan mis pasos: mis abuelos Dominga, Jesús y Felipa.

A mis amigos: Tere, Sergio, Ricardo, Lupita, Karina, Angélica, Edmón, Paco, Maribel, Noelia y Miguel Ángel gracias por haber compartido conmigo, los buenos y malos momentos, por que se que a pesar de el tiempo y la distancia, siempre estarán aquí para apoyarme, los quiero.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios, por sobre todo a él, por darme la salud y la fuerza para concluir mi estudios.

Gracias a la gran casa de estudios: UNAM, por permitirme ser parte de ella.

Gracias a la Profesora Guadalupe Rebollar Barrera, por su amistad, por su tiempo y sobre todo por apoyarme para poder concluir este trabajo. Gracias por que gracias a esa vocación de servicio podemos contar con profesores como usted.

Gracias a mis compañeros y amigos de ISSEMYM: QFB Blanca E. Delgadillo, QFB Francisco Vargas, Martha, Armando, Jesús, Zaúl, Claudia, Sagrario, Dionisio, Víctor y al Lic. Leonel Ramírez por su confianza y apoyo.

A todos aquellos que a través de mi vida con una palabra o una acción me han ayudado a crecer y a ser una mejor persona.

¡GRACIAS!

INDICE

	PAGINA
1.- Abreviaturas	3
2.- Tablas y figuras.	4
3.- Introducción	5
4.- Objetivos.	7
5.- Marco teórico.	8
5.1.- Anatomía del riñón	8
5.1.1.- Anatomía macroscópica	8
5.1.2.- Anatomía microscópica.	9
5.1.3.- Formación de orina	10
5.2.- Anatomía pancreática.	13
5.2.1.- Funciones pancreáticas.	15
5.3.- Diabetes mellitus.	16
5.3.1.- Clasificación de la diabetes mellitus.	17
5.3.2.- Hemoglobina glucosilada.	17
5.3.3.- Métodos de cuantificación de hemoglobina glucosilada	22
6.- Fundamento de las pruebas generales de la determinación de glucosa.	23
6.1.-Determinación de glucosa en suero.	23
6.2.- Determinación de glucosa urinaria.	24
6.3.- Determinación de hemoglobina glucosilada en sangre.	26
7.- Examen general de orina.	29
8.- Toma de muestras.	30
8.1.- Preparación del paciente.	30
8.2.- Muestreo.	32
8.3.- Sangre.	32
8.4.- Punción venosa	33
8.4.1. Técnica de la punción venosa	34
8.5.- Orina	37
8.5.1.-Tipo de muestras.	38
8.5.2.-Técnicas habituales de recolección de muestras.	39
8.5.3.- Obtención de muestras a mitad de la micción.	39

	PAGINA
8.5.3.1.- En hombres	39
8.5.3.2.- En mujer	39
8.5.3.3.- En niños	40
8.5.3.4.- En pacientes con sonda	40
8.5.4.- Recolección de orina de 24 hrs.	40
9.- Conservación de las muestras.	41
9.1.- Muestra urinaria.	42
9.1.1.- Refrigeración.	42
9.1.2.- Congelación.	42
9.1.3.- Conservadores químicos.	43
9.1.3.1.- Fluoruro de sodio	43
9.1.3.2.- Tabletas conservadoras	43
9.1.3.3.- Acido bórico	43
9.1.3.1.- Ajuste de pH	44
9.1.4.- Conservadores citológicos.	44
9.2.- Muestras sanguínea.	44
9.2.1.- Separación rápida.	45
9.2.2.- Adición de fluoruro de sodio (NaF)	45
9.2.3.- Enfriamiento de la muestra.	46
10.- Material y método	47
10.1.- Metodología.	48
10.1.1.- Determinación de glucosa.	48
10.1.2.- Determinación de hemoglobina glucosilada	50
10.1.3.- Determinación de glucosa urinaria.	52
11.- Resultados.	54
12.- Análisis de resultados.	61
13.- Conclusiones.	64
14.- Recomendaciones	65
15.- Glosario	66
16.- Anexo.	69
17.- Bibliografía.	77

1. ABREVIATURAS.

DCCT: Ensayo de control y complicaciones de la diabetes.

ENEC: Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas.

ENSA: Encuesta Nacional de Salud.

HAD: Hormona antidiurética.

HbA: Hemoglobina A.

HbA1: Hemoglobina glucosilada.

IFG. Velocidad de filtración glomerular

Pre A1c: Enlace cetoamida.

TINIA: Inmunoensayo de inhibición turbidimétrico.

2. TABLAS Y FIGURAS.

	PAGINA
FIG.1. Sistema Renal	8
FIG.2. Anatomía microscópica del riñón.	9
FIG.3. Anatomía pancreática.	14
FIG.4.Estructura terciaria de la Hemoglobina.	18
FIG.5. Glucosilación de la hemoglobina.	21
FIG.6. Punción venosa	36
FIG.7. Procedimiento para determinar glucosa sérica.	49
FIG.8. Procedimiento para determinar hemoglobina glucosilada.	51
FIG.9. Procedimiento para determinar glucosa urinaria.	53
FIG.10. Evaluación de la concentración de glucosa serica en diferentes pacientes del Hospital Regional Ecatepec	56
FIG.11. Valoración de la concentración de glucosa urinaria en pacientes diabeticos del Hospital regional Ecatepec.	57
FIG.12.Comparación de las diferentes concentraciones de Hemoglobina glucosilada en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo II.	58
FIG.13. Gráfica dispersa de datos de glucosa sérica y hemoglobina glucosilada para 54 pacientes con diabetes mellitus tipo II.	59
FIG.14. Equipo DIMENSION AR	70
FIG.15. Curva de calibración para un método no lineal.	72
FIG.16. Resultados de calibración de glucosa sérica.	73
FIG.17. Gráfico de calibración de glucosa sérica.	74
FIG.18. Resultados de calibración de hemoglobina glucosilada.	75
FIG.19. Gráfico de calibración de hemoglobina glucosilada.	76
TABLAS.	
1. Parámetros mínimos detectables en las tiras reactivas de orina.	24
2. Evaluación de glucosas séricas, urinarias y hemoglobinas glucosiladas de 54 pacientes diabéticos del Hospital Regional Ecatepec.	54
3. Relación de pacientes que presentaron glucosa sérica elevada	60

3. INTRODUCCIÓN

Durante mi formación universitaria realice mi servicio social dentro del Instituto de Seguridad Social del Estado de México y Municipios (ISSEMYM), específicamente en laboratorio clínico, dentro del cual pude adquirir experiencia que me ha servido de gran ayuda para poder seguir mi desarrollo profesional.

El laboratorio clínico representa un área muy importante del sector salud y siempre esta en cambio continuo debido a los avances en tecnología, los nuevos tratamientos y la economía externa. En los últimos años, muchas técnicas nuevas se han introducido al mercado como resultado de la investigación en la patogénesis de las enfermedades, estas a su vez desempeñan un papel muy importante, el de poder consolidar esos cambios tecnológicos con el manejo del paciente y asegurar que las pruebas de laboratorio clínico realmente proporcionan un valor al diagnóstico, tratamiento y seguimiento del paciente.

El profesional del laboratorio clínico debe combinar sus conocimientos en el área de diagnóstico con su experiencia analítica para aconsejar a sus colegas clínicos acerca de las propiedades de los exámenes, cómo seleccionar el examen idóneo y cómo dar una interpretación adecuada de los resultados.

En el sector salud, los dos principales motivos de demanda de atención lo constituyen la hipertensión arterial y la diabetes mellitus. Esta última considerada una pandemia en aumento ya que para 1996 en América se calculó que vivían aproximadamente 30 millones de personas con diabetes, mas de la cuarta parte del total de los casos mundiales. El problema se magnifica al constatar que al menos un tercio de las personas con diabetes mellitus en América Latina desconoce su condición de enfermo, lo cual desafía al programa de detección y complica la implantación de las estrategias de atención, control y prevención. La situación en México es parecida al resto de los países en desarrollo en cuanto a la magnitud del problema, aunque las cifras varían de acuerdo con la fuente, el nivel de atención, la población de referencia, el tipo de diagnóstico, los criterios de clasificación, etcétera.

En la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC-1993) se informó una prevalencia general de 8.2 y 21 % en los adultos de 60 a 69 años. La Encuesta Nacional de Salud II (ENSA-II, 1994) indicó una prevalencia de diabetes mellitus del 9 % para la población mayor de 60 años, y una tasa de morbilidad percibida de diabetes de dos por cada 1000 habitantes, para ubicarse entre los principales problemas de salud reportados, ya que 2 % de las personas la identificó como un problema de salud en los últimos quince días previos a la encuesta. Por otro lado, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA-2000) registró una prevalencia general de diabetes mellitus de 7.5 % en la población mayor de 20 años.

Conforme a los criterios aceptados por la Organización Mundial para la Salud hasta el año 1997, los niveles de corte establecidos para la glucosa basal en ayuno (< 140 mg/dl) y de glucosa posprandial (< 200 mg/dl) no destacaban la importancia de reducir las complicaciones de los problemas crónico-degenerativos de la diabetes mellitus que condicionan un envejecimiento prematuro secundario a la hiperlipidemia y a la glucosilación de las proteínas, lo que ha provocado complicaciones que generan costos catastróficos al sistema de salud. De acuerdo a nuevos criterios internacionales, incluyendo la NOM-015-SSA para la Prevención, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus, la curva de tolerancia a la glucosa oral es prácticamente una prueba obsoleta para fines diagnósticos, siendo reemplazada por pruebas de glicemia basal (< 126 mg/dl) y posprandial (< 200 mg/dl).²⁶

Existe evidencia sólida de que los nuevos criterios aumentarán la sensibilidad diagnóstica, por lo que aumentará el número de pacientes catalogados como diabéticos. Como es de esperarse, el aumento en la sensibilidad se encuentra asociado con una pérdida proporcional de la especificidad, lo cual incrementará el número de falsos positivos. Dadas las implicaciones médicas, psicológicas, económicas, laborales y sociales, sobre el paciente y el sistema de salud, resulta indispensable mejorar la confiabilidad diagnóstica, para lo cual se ha demostrado que la determinación de la hemoglobina glucosilada, es definitivamente la mejor opción, en términos de confiabilidad, costo y beneficio.

4. OBJETIVOS:

- Analizar los niveles de glucosa urinaria y sanguínea en pacientes diabéticos, comparándolos con los niveles de hemoglobina glucosilada para establecer la importancia de este estudio como análisis alternativo en el control de Diabetes mellitus tipo II.
- Estudiar las condiciones de la toma de muestras, determinando con esto la importancia y repercusión de un mal manejo de las mismas.
- Establecer la importancia de la Hb. Glucosilada como un análisis alternativo, para el diagnóstico de Diabetes mellitus tipo II.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. ANATOMÍA DEL RIÑÓN.¹

5.1.1. Anatomía macroscópica. Los riñones son órganos pares situados en la pared posterior del abdomen a ambos lados de la columna vertebral. Debajo de la cápsula de tejido fibroso que incluye los riñones se ubica la corteza, que contiene los glomérulos. La porción interna del riñón, la médula, contiene los túbulos colectores. La pelvis renal disminuye rápidamente su calibre y se une dentro del uréter. Cada uréter desciende al abdomen al costado de la columna vertebral para unirse en la vejiga. La vejiga provee un almacenamiento temporal de orina, que es eventualmente vertida a través de la uretra al exterior. (fig. 1)

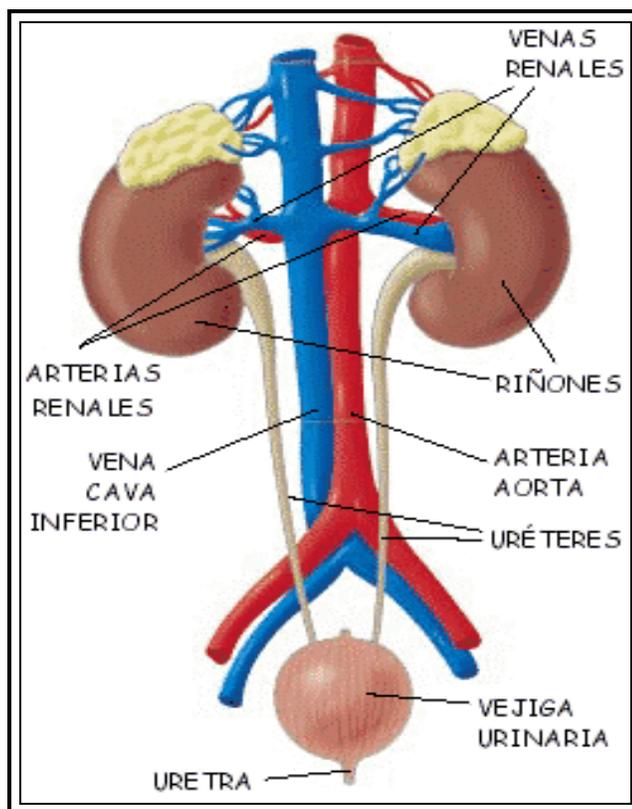


FIG. 1 SISTEMA RENAL. El sistema renal está constituido por un par de riñones los cuales contienen los túbulos colectores. La pelvis renal se une dentro del uréter y estas a su vez descienden para unirse con la vejiga la cual almacena temporalmente la orina que se vierte a través de la uretra.

5.1.2. Anatomía microscópica. Cada riñón está constituido por aproximadamente 1 millón de unidades funcionales o nefronas. La nefrona comienza con el glomérulo, que es un penacho de capilares que se forman desde la arteriola aferente (entrada) y son drenados por la arteriola eferente de menor tamaño (salida). El glomérulo está rodeado por la cápsula de Bowman, la cual está formada por la porción final dilatada ciega del túbulo renal. El túbulo contorneado proximal recorre un curso tortuoso a través de la corteza, entrando en la médula y formando primero la rama descendente del asa de Henle y luego la rama ascendente del asa de Henle. La sección gruesa de la rama ascendente del asa de Henle vuelve a entrar en la corteza, formando el túbulo contorneado distal. La salida de dos o más túbulos distales marca el comienzo de un túbulo colector. Como los túbulos colectores descienden a través de la corteza y médula, reciben el efluente de una docena o más túbulos distales.² (fig. 2)

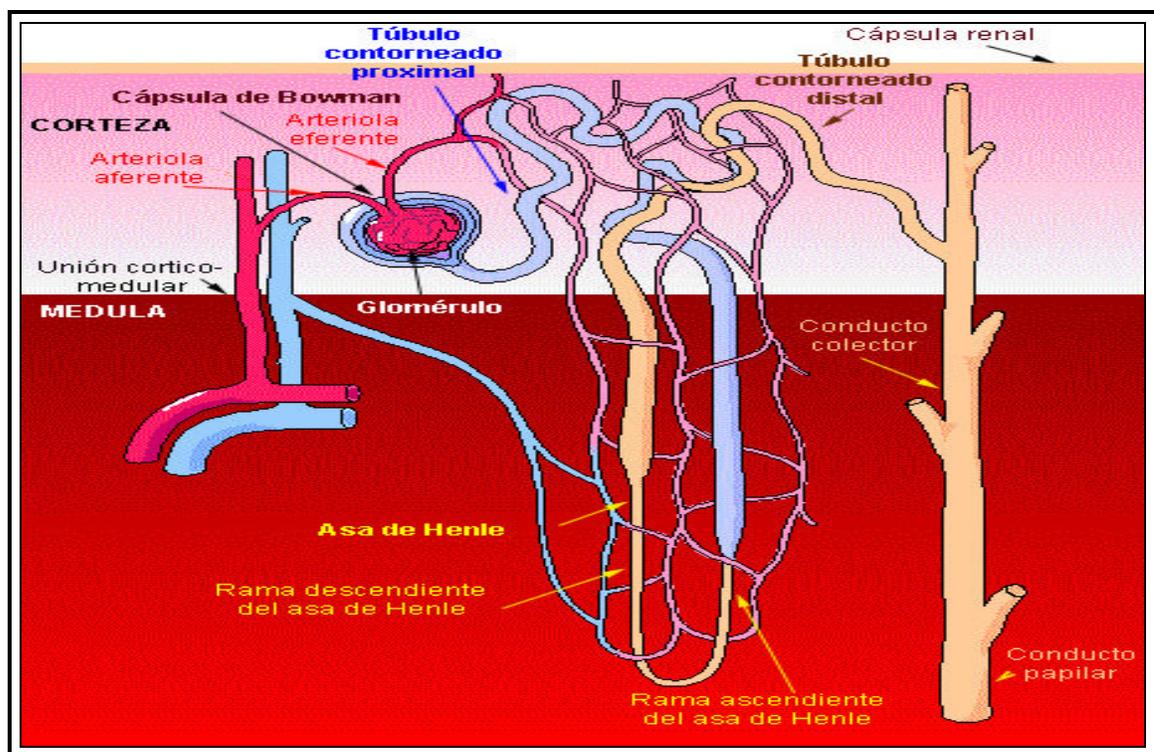


FIG. 2 ANATOMÍA MICROSCÓPICA DEL RIÑÓN. El riñón está constituido por un millón de nefronas. La nefrona comienza en el glomérulo el cual está rodeado por la capsula de Bowman. El túbulo contorneado proximal entra en la médula y forma la rama descendente y ascendente del asa de Henle, esta a su vez el tubo contorneado distal. La salida de dos o más túbulos marca el comienzo del túbulo colector, estos aumentan de tamaño formando un túbulo central

Los túbulos colectores se unen y aumentan su tamaño así como pasan hacia abajo en la médula. Los túbulos de cada pirámide se unen para formar un túbulo central, el cual vacía a través de la pila en unos cálices menores, eventualmente evacuando en la pelvis renal.

Fisiología renal. El riñón es el principal regulador de todos los fluidos corporales y es primariamente responsable de mantener la homeostasis, o equilibrio entre fluido y electrolitos en el organismo.

El riñón tiene seis funciones principales:

1. Formación de la orina
2. Regulación del equilibrio hidroeléctrico.
3. Regulación del equilibrio ácido-base
4. Excreción de los productos de desecho del metabolismo proteico.
5. Función hormonal.
6. Conservación proteica

El riñón es capaz de efectuar estas funciones porque aproximadamente el 25% del volumen de sangre bombeada por el corazón en la circulación sistémica circula a través de los riñones; por lo tanto los riñones, que constituyen cerca del 0.5% del peso total del cuerpo, reciben un cuarto de la salida cardiaca.³

5.1.3. Formación de la orina. La función principal de los riñones es la remoción de productos potencialmente tóxicos y es realizada mediante la formación de la orina. Los procesos básicos involucrados en la formación de la orina son filtración, reabsorción y secreción.

Los riñones filtran grandes volúmenes de plasma, reabsorben la mayoría de lo que es filtrado, y queda para la eliminación una solución concentrada de desechos metabólicos llamada orina. En individuos sanos, altamente sensibles a fluctuaciones de la dieta e ingesta de fluido y electrolito, los riñones compensan cualquier cambio variando el volumen y la consistencia de la orina.²

Filtración glomerular. Por los riñones pasan entre 1000 y 1500 ml de sangre por minuto. El glomérulo tiene una membrana basal semipermeable que permite el libre pasaje de agua y electrolitos pero es relativamente impermeable a moléculas grandes. En los capilares glomerulares la presión hidrostática es aproximadamente tres veces mayor que la presión en otros capilares. Como resultado de esta gran presión, las sustancias son filtradas a través de la membrana semipermeable en la cápsula de Bowman a una velocidad aproximada de 130 ml/min.; esto es conocido como la velocidad de filtración glomerular (IFG). Las células y proteínas plasmáticas de gran peso molecular son incapaces de pasar a través de la membrana semipermeable. Por lo tanto el filtrado glomerular es esencialmente plasma sin proteínas. La IFG es un parámetro extremadamente importante en el estudio de la fisiología renal y en la evaluación clínica de la función renal. En una persona promedio sana, se forman por día más de 187,000 ml de filtrado. La excreción normal de orina es alrededor de 1500 ml por día, lo cual es solamente cerca del 1% de la cantidad de filtrado formado; por lo tanto el otro 99% debe ser reabsorbido.³

Túbulo proximal. Las células del túbulo proximal desempeñan una variedad de funciones fisiológicas. Aproximadamente un 80% de la sal y el agua son reabsorbidos desde el filtrado glomerular en el túbulo proximal. Toda la glucosa filtrada y la mayoría de los aminoácidos filtrados son normalmente reabsorbidos aquí. Las proteínas de bajo peso molecular, urea, ácido úrico, bicarbonato, fosfato, cloruro, potasio, magnesio, y calcio son reabsorbidos en diferente grado. Una variedad de ácidos orgánicos y bases, así como también iones hidrógeno y amoníaco, se secretan en el fluido tubular por las células tubulares.

En condiciones normales, la glucosa no es excretada en la orina; todo lo que filtra se reabsorbe. Cuando la concentración plasmática de glucosa está aumentada por encima de un nivel crítico, llamado el umbral plasmático renal, el máximo tubular para la glucosa es excedido y la glucosa aparece en la orina. Cuanto mayor es la concentración de glucosa plasmática, mayor es la cantidad excretada por la orina. También existen umbrales renales plasmáticos para los iones fosfato y bicarbonato.

La mayoría de la energía metabólica consumida por el riñón es usada para promover la reabsorción activa. La reabsorción activa puede producir el movimiento neto de una sustancia contra un gradiente de concentración y por lo tanto requiere gasto de energía para el transporte de células. La reabsorción activa de glucosa, aminoácidos, proteínas de bajo peso molecular, ácido úrico, sodio, potasio, magnesio, calcio, cloruro y bicarbonato está regulada por el riñón de acuerdo a los niveles de estas sustancias en la sangre y la necesidad del organismo. La reabsorción pasiva ocurre cuando una sustancia se mueve por difusión simple como el resultado del gradiente de concentración químico o eléctrico y no se involucra energía celular en el proceso. El agua, urea y cloruro son reabsorbidos de esta forma.

La secreción tubular, que transporta sustancias al lumen tubular (que es, en la dirección opuesta a la reabsorción tubular), también puede ser un proceso activo o pasivo. Las sustancias que son transportadas desde la sangre a los túbulos y excretadas en la orina incluyen potasio, iones hidrógeno, amoníaco, ácido úrico y ciertos fármacos, como la penicilina.

Asa de Henle. La rama descendente del asa de Henle es altamente permeable al agua. En la médula, el asa de Henle desciende en un medio progresivamente hipertónico a medida que se aproxima a la papila. Hay una reabsorción pasiva de agua en respuesta a este gradiente osmótico, dejando la presunta orina altamente concentrada en el fondo del asa. La rama ascendente es relativamente impermeable al pasaje de agua pero reabsorbe activamente sodio y cloruro. Este segmento de la nefrona es a menudo llamado el segmento dilutorio porque la remoción de la sal con pequeño pasaje de agua desde el contenido tubular disminuye la sal y la concentración osmótica, diluyendo en efecto el fluido tubular. La rama gruesa ascendente del asa de Henle transfiere cloruro de sodio activamente desde su luz hacia el fluido intersticial. El fluido tubular en su luz se vuelve hipotónico y el fluido intersticial hipertónico, este fenómeno es conocido como el mecanismo de contracorriente. Una serie de mecanismos sucesivos producen el atrapamiento de cloruro de sodio en el líquido intersticial medular.

A medida que el fluido isotónico en la rama descendente alcanza el área en la cual la rama ascendente está bombeando sodio, se vuelve ligeramente hipertónico debido al movimiento de agua al intersticio hipertónico.

El primer paso se repite y nuevamente, a medida que se agrega más cloruro de sodio al intersticio por la rama ascendente, se produce una mayor salida de agua de la rama descendente.

Túbulo contorneado distal. Una pequeña fracción de sodio, agua filtrada y cloruro es reabsorbida en el túbulo distal. El túbulo distal responde a la hormona antidiurética (HAD) y por lo tanto su permeabilidad al agua es alta en presencia de la hormona y baja en su ausencia. El potasio puede ser reabsorbido o segregado en el túbulo distal. La aldosterona estimula la reabsorción de sodio y la secreción de potasio en el túbulo distal. También ocurre la secreción de hidrógeno, amoníaco y ácido úrico y la reabsorción de bicarbonato, pero hay un pequeño transporte de sustancias orgánicas. Este segmento de la nefrona tiene una baja permeabilidad a la urea.

Túbulo colector. La HAD controla la permeabilidad del agua del túbulo colector a lo largo de su longitud. En presencia de la hormona, el fluido tubular hipotónico entra al túbulo perdiendo agua. El sodio y cloruro son reabsorbidos por el túbulo colector, con el transporte de sodio estimulado por la aldosterona. El potasio, hidrógeno y amonio son también reabsorbidos por el túbulo colector. Cuando la HAD está presente, la velocidad de reabsorción de agua excede la velocidad de reabsorción de soluto y la concentración de sodio y cloruro aumenta en orina. El túbulo colector es relativamente impermeable a la urea.

5.2.- ANATOMIA DEL PANCREAS³

El páncreas es un órgano alargado, cónico, localizado transversalmente detrás del estómago. El lado derecho del órgano (llamado cabeza) es la parte más ancha y se encuentra en la curvatura del duodeno, que es la primera porción del intestino delgado. La parte cónica izquierda (llamada cuerpo del páncreas), se extiende ligeramente hacia arriba y su final termina cerca del bazo.

El páncreas está formado por dos tipos de tejidos:

1.- El tejido exocrino, el cual secreta enzimas digestivas. Estas enzimas son secretadas a una red de conductos que se unen para formar el conducto pancreático principal, que atraviesa todo el páncreas.

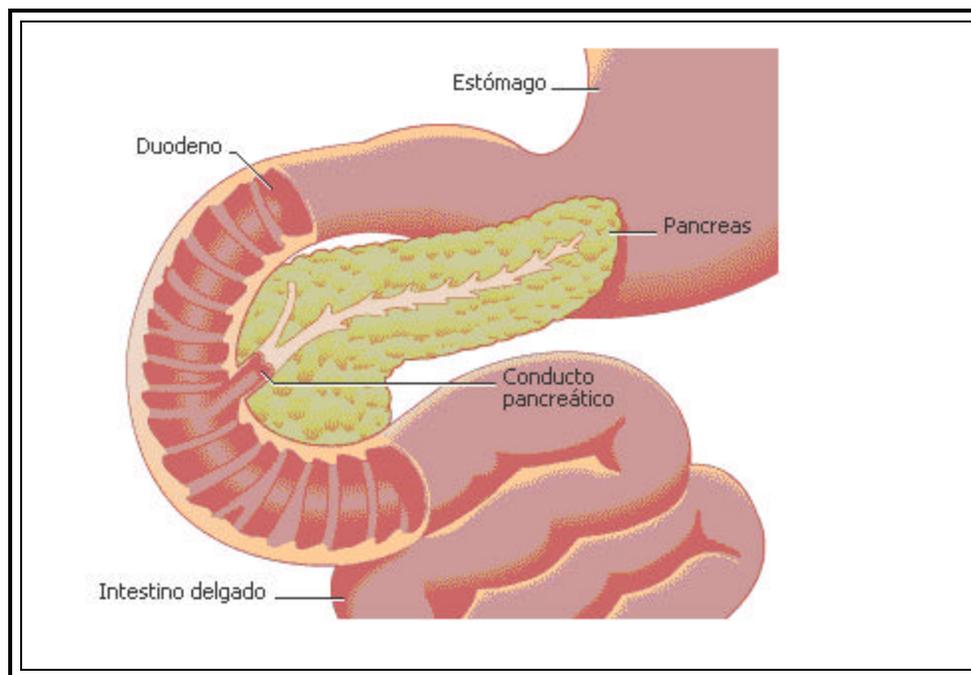


FIG.3. ANATOMIA PANCREATICA. El páncreas, es una gran glándula localizada inmediatamente por debajo del estómago. Vierte cerca de 1 200 ml de secreciones cada día en la parte superior del intestino delgado, a unos cuantos centímetros más allá del píloro

2.- El tejido endocrino, el cual está formado por los islotes de Langerhans, que secretan hormonas en el torrente sanguíneo.

5.2.1.-Funciones del páncreas:

El páncreas tiene funciones digestivas y hormonales:

A) Las enzimas secretadas en el páncreas por el tejido exocrino, ayudan a la degradación de carbohidratos, grasas, proteínas y ácidos en el duodeno. Estas enzimas son transportadas por el conducto pancreático hasta el conducto biliar en forma inactiva. Cuando entran al duodeno, se vuelven activas. El tejido exocrino también secreta bicarbonato para neutralizar los ácidos del estómago en el duodeno (la primera porción del intestino delgado).

B) Las hormonas secretadas en el páncreas por el tejido endocrino son la insulina y el glucagón (que regulan el nivel de glucosa en la sangre) y somatostatina (que previene la liberación de las otras dos hormonas). Hay grupos de células endocrinas, denominados islotes de langerhans, distribuidos por todo el tejido que secretan insulina y glucagón. La insulina actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, aumentando la tasa de utilización de la glucosa y favoreciendo la formación de proteínas y el almacenamiento de grasas.

El glucagón aumenta de forma transitoria los niveles de azúcar en la sangre mediante la liberación de glucosa procedente del hígado

En las células de los islotes pancreáticos se encontró que existían dos tipos principales de células, alfa y beta que constituyen los islotes pancreáticos. Estas masas de tejido están distribuidas entre las células acinares pancreáticas que secretan el jugo digestivo pancreático.

Cada tipo de célula procede de las hormonas secretadas por los islotes. La hormona insulina es la producida por las células beta; una proteína cuya fórmula química es conocida y que ejerce tres efectos básicos en el metabolismo de los carbohidratos:

- Aumenta el metabolismo de la glucosa
- Disminuye la cantidad de glucosa en la sangre
- Aumenta la cantidad de glucógeno almacenado en el tejido.

Aunque es cierto que la glucosa puede ser metabolizada y el glucógeno almacenado sin insulina, estos procesos son gravemente alterados por la deficiencia de insulina.

5.3. DIABETES MELLITUS.

En 1650 Tomas Willis descubrió que la orina de diabéticos contenía azúcar. En 1857 Claude Bernard demostró que el azúcar no se formaba en el riñón, sino que era extraída del cuerpo se eliminaba en la orina, hizo notar por primera vez la existencia de la hiperglucemia al encontrar valores elevados de glucosa en sangre.⁴

La diabetes mellitus es un síndrome debido a desórdenes metabólicos de la energía, causados por la secreción o acción insuficiente de la insulina a nivel celular y da como resultado una alteración en la homeostasis afectando el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas.⁵

La anomalía primaria de la diabetes es insuficiencia para utilizar cantidades suficientes de glucosa para obtener energía y por tanto empleo de cantidades excesivas de grasa con esta finalidad. Esto hace que se incremente la concentración sanguínea de glucosa, a veces hasta tres veces lo normal y en casos raros hasta 10 veces. Se pierden grandes cantidades de glucosa por la orina porque los túbulos renales no pueden resorber toda la que les llega en el filtrado glomerular cada minuto.

El exceso de glucosa tubular también crea una presión osmótica enorme en los túbulos, lo que disminuye la resorción de agua. Como resultado, la persona diabética pierde grandes cantidades de agua lo mismo que de glucosa por la orina. En casos extremos, la excreción excesiva de orina produce deshidratación extracelular, que en si misma es dañina.

La incapacidad del diabético para utilizar la glucosa con objeto de obtener energía lo priva de una parte importante de la energía de sus alimentos. Pierde peso y se debilita al consumir excesivamente sus reservas de grasas y proteínas. Como resultado de la deficiencia de nutrientes de la diabetes, la persona diabética suele estar muy hambrienta, de modo que a menudo come vorazmente aunque la parte de carbohidratos de los alimentos contribuya poco a su nutrición.⁶

5.3.1. Clasificación de la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus *tipo I* está caracterizada por insuficiencia severa y depende de la insulina inyectada para prevenir cetoacidosis y preservar la vida, por lo cual se le llama insulino-dependiente.⁵

Esta casi siempre se presenta en la juventud, pero no está restringida solo para niños, puede ocurrir a cualquier edad. Por lo tanto los términos de diabetes juvenil, diabetes propensa a cetoacidosis y diabetes frágil se han abandonado por el término diabetes *tipo I* o diabetes mellitus insulino dependiente.⁷

Los pacientes con diabetes *tipo II* suelen ser de edad mayor (mayor a 40 años), relatan antecedentes familiares de diabetes y son obesos, aunque entre 10 y 20 % no lo son. La diabetes *tipo II* se caracteriza por la resistencia periférica a la acción insulínica y una secreción reducida de insulina a pesar de la presencia de una glucemia alta. Estos defectos reducen la captación periférica de glucosa hepática, lo que ocasiona hiperglucemia posprandial y de ayuno, respectivamente.

Puesto que el paciente con diabetes *tipo II* conserva la capacidad de secretar insulina endógena, los que la reciben en forma exógena no suelen desarrollar cetoacidosis diabética cuando no toman el medicamento. Por consiguiente, se considera que no son insulino-dependientes. Además, muchas veces no necesitan medicamentos antidiabéticos orales ni insulina cuando bajan de peso o se encuentran hospitalizados y no consumen alimentos por vía oral.⁸

5.3.2. Hemoglobina glucosilada.

El origen de los eritrocitos es la médula ósea, su vida media es de aproximadamente 120 días. La cantidad de eritrocitos que se producen diariamente es aproximadamente igual a la de eritrocitos que se retiran de circulación por parte del hígado y el bazo, por lo que la cantidad de eritrocitos en una persona en cualquier momento es casi siempre la misma.

La función principal de la hemoglobina es transportar los gases de la respiración, mientras que los eritrocitos a su vez tienen como función transportar a la hemoglobina. La hemoglobina tiene como peso molecular 68,000 daltons; comprende cuatro cadenas de aminoácidos, cada una unida a un componente hemo.

La estructura primaria de la hemoglobina consiste en una secuencia lineal de aminoácidos, unida por uniones covalentes, componiendo así las cadenas polipeptídicas. Las cadenas polipeptídicas forman una hélice (estructura secundaria) que se mantiene por puentes de hidrógeno entre grupos carbonilo (C=O) y amida (N-H) de ciertos péptidos.

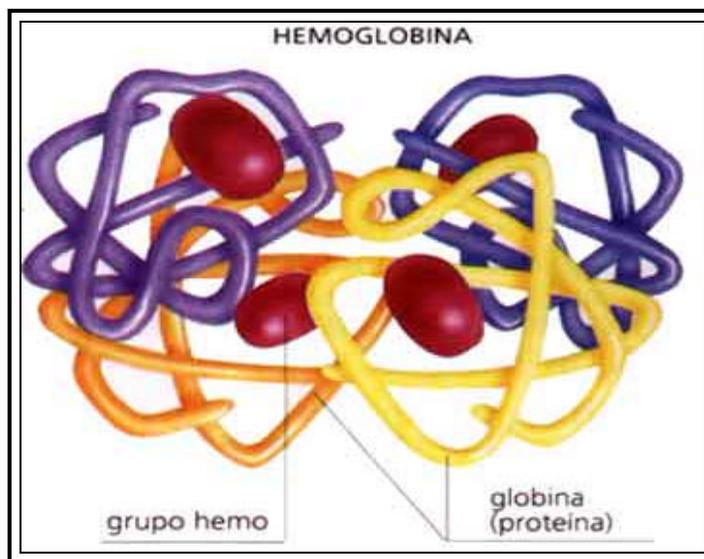


FIG. 4 ESTRUCTURA TERCIARIA DE LA HEMOGLOBINA. La hemoglobina está constituida por cuatro cadenas de aminoácidos, cada una unida a un componente hemo. La estructura terciaria es un monómero formado por un grupo hemo y una cadena globina y en su forma funcional es un tetrámero consistente de dos pares de esferas hemoglobina.

La hélice se dobla en una forma compacta, rugosa y esférica (estructura terciaria), la cual se mantiene gracias a las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y puentes de sales. La estructura terciaria es un monómero consistente en una cadena globina y un grupo hemo. En esta estructura los aminoácidos polarizados se encuentran en la cara exterior, mientras que los no polares se encuentran en el interior. Esta carga eléctrica en la superficie es una característica importante para la identificación de diferentes tipos de hemoglobinas.

La estructura terciaria puede sufrir agregaciones (estructura cuaternaria): dos cadenas forman un dímero y cuatro cadenas forman un tetrámero. La hemoglobina en su forma funcional es un tetrámero consistente de dos pares de esferas hemo – globina.

A la hemoglobina glucosilada se le denomina de diferentes formas: se le conoce como HbA1, como componentes menores de la hemoglobina, como hemoglobina rápida o como fracción menor de la hemoglobina.⁹

La hemoglobina glucosilada fue observada por primera vez por Allen y colaboradores en 1958, cuando buscaban los componentes heterogéneos de la oxihemoglobina por cromatografía intercambiadora de cationes con hemolizados de células rojas. Utilizaron desarrolladores a base de sodio, cianuro de potasio, fosfato de sodio y fosfato ácido de sodio, observaron que existía un componente menor que ocupaba cerca del 10 % de la hemoglobina total, al cromatografiar nuevamente la zona A1, vieron otras tres zonas, las cuales denominaron por sus orden de elusión como HbA1a, HbA1b y HbA1c que se encontraban en proporciones 1:1:4.¹⁰

Para la formación de la hemoglobina glucosilada se lleva a cabo una reacción dentro del eritrocito, que consiste en la unión no enzimática de la glucosa con la hemoglobina. Durante la reacción, la glucosa se condensa con el grupo N-aminoterminal de la cadena beta de la hemoglobina, específicamente al aminoácido valina formando una cetoamina poco estable llamada base de Schiff, ésta se forma continua y lentamente, es un enlace débil y muy disociable. Esta hemoglobina glucosilada es una modificación de la hemoglobina A en donde no intervienen enzimas.

Posteriormente el enlace cetoamina también llamado Pre-A1c da lugar a una modificación llamada *rearrreglo de Amadori*, para formar un enlace cetoamina que es más estable dando origen a la hemoglobina glucosilada.

Debido a que este enlace es irreversible, la hemoglobina glucosilada se empieza a acumular dentro de la célula roja lenta y continuamente durante el lapso de vida de ésta, que es en promedio de 120 días.⁹

(fig 5)

La HbA1c es una glucoproteína formada en cantidades más elevadas en diabéticos que en personas normales, aunque se ha observado que sus niveles se encuentran normales en hiperglicemia asintomática y aumentados en insulino dependientes.¹¹

La reacción química entre la glucosa y la hemoglobina es un proceso llamado “glucosilación no enzimática”. Esta proteína HbA modificada postsintéticamente se une con la glucosa. Como el eritrocito es libremente permeable a la glucosa, se forma la hemoglobina glucosilada continuamente, la cantidad de HbA1 tiene una tasa dependiente de la concentración de glucosa en el ambiente celular.¹²

Cada célula roja empieza su vida sin hemoglobina glucosilada. El proceso de adición de la glucosa a la hemoglobina, comienza cuando la glucosa traspasa la membrana celular del eritrocito y la glucosa por un choque físico se une a los tetrámeros de la hemoglobina, la formación de la hemoglobina glucosilada como tal ocurre en dos pasos:

1.- El azúcar circulante en la sangre pasa a través de la pared celular del eritrocito y reacciona con la hemoglobina. En este primer paso la unión del azúcar a la hemoglobina ocurre rápidamente y esta unión azúcar-hemoglobina es reversible, por lo que si la concentración de azúcar decrece la unión reversible se rompe fácilmente. El producto del primer paso es un intermediario conocido por los nombres: base de Schiff, fracción lábil, pre-A1c o Aldimina.

El paso número uno es dependiente de la cantidad de glucosa. Si la concentración de glucosa disminuye la unión reversible de la base de Schiff se romperá formando hemoglobina y azúcar. Si en los siguientes minutos la concentración de glucosa aumenta se formará más base de Schiff.¹³

2.- La base de Schiff lentamente se arreglará molecularmente para formar una unión irreversible, este producto es la hemoglobina glucosilada. Si las altas concentraciones de glucosa persisten, la doble unión de la aldimina, que es sumamente inestable, se arregla a través de una reacción de transposición lenta (rearrreglo de Amadori) formándose un complejo glucosa-proteína de tipo cetoamina estable que ya no se descompone y que subsiste durante la vida de la proteína y sólo desaparece por degradación.¹⁴ (fig.5)

La información de la estructura y biosíntesis de la HbA1c indican que puede proveer una medición integral de la glucosa de los pacientes diabéticos en los 60 a 90 días precedentes.¹⁴

La hemoglobina glucosilada, viene a sustituir con gran eficacia a la determinación de glucosa en ayunas, debido a que esta última no refleja con precisión el control metabólico del paciente con diabetes, cuyos niveles de glucosa son muy variables, además solo reflejan la glucosa presente en el momento de la toma de muestra, en cambio la hemoglobina glucosilada, refleja los 90 días precedentes a la prueba¹⁵

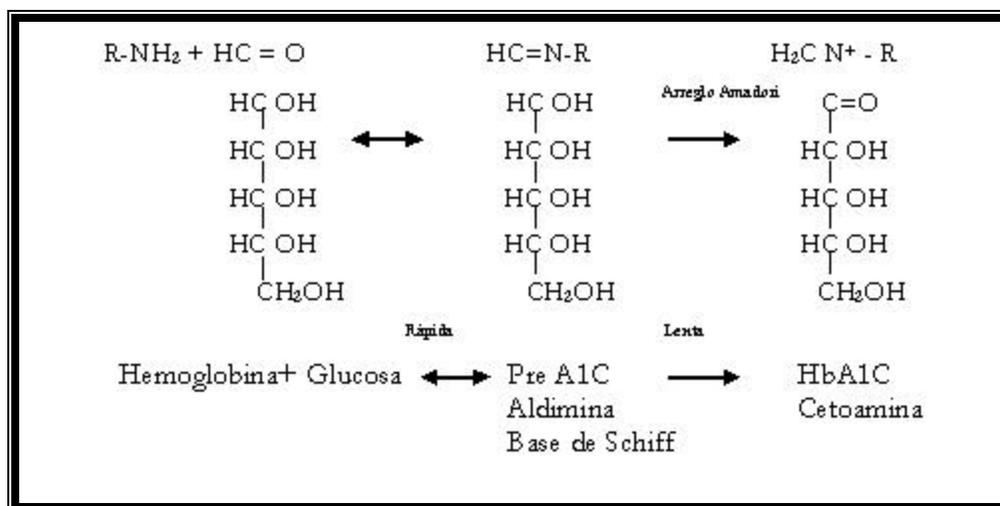


FIG. 5 GLUCOSILACIÓN DE LA HEMOGLOBINA . La glucosa se condensa con el grupo N-aminoterminal de la cadena β de la hemoglobina, formando una cetoamina inestable (Base de Schiff), posteriormente el enlace cetoamida (Pre-A1c) da lugar al rearrreglo de Amadori formando un enlace cetoamina estable, que da origen a la HbA1c.

La hemoglobina glucosilada puede servir también para confirmar diabetes si se sospecha que existe, ya que no requiere de la cooperación del paciente para determinarse y da una imagen más real del control metabólico del paciente.¹⁵

5.3.3. METODOS DE CUANTIFICACIÓN DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA.

Los métodos más comunes de cuantificación de hemoglobina glucosilada en el laboratorio clínico se han clasificado en tres grupos principales:

- Métodos de afinidad.

1. Captura iónica
2. Columna de cromatografía por afinidad.
 - a) Cromatografía de alta resolución por afinidad.
 - b) Mini o micro columnas.

Para este tipo de metodos

- Métodos de inmuno ensayo.

- a) Método de inmunoaglutinación
- b) Método de inmuno ensayo enzimático.

- Métodos por separación de carga.

1. Electroforesis.
2. Cromatografía de columna de intercambio iónico.
 - 2.1. Cromatografía líquida de alta resolución por intercambio iónico.
 - 2.2. Mini o micro columnas de intercambio iónico.
 - 2.2.1. Mini o micro columnas de intercambio iónico A1c.
 - 2.2.2. Mini o micro columnas de intercambio iónico A1.

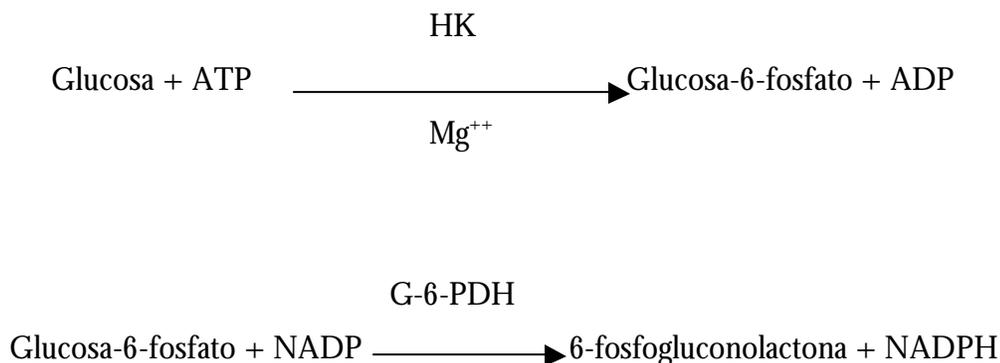
Todos estos métodos tienen como objetivo cuantificar la hemoglobina glucosilada presente en una muestra, sólo que cada uno de ellos detecta o cuantifica de forma diferente las fracciones o grupos específicos de la hemoglobina que es capaz de unirse a la glucosa.¹⁶

6. FUNDAMENTO DE LA PRUEBAS GENERALES PARA LA DETERMINACION DE GLUCOSA.

6.1. Determinación de glucosa en suero.¹⁷

El método de glucosa empleado por el sistema de química clínica es una adaptación del método de la deshidrogenasa de hexoquinasa-glucosa-6-fosfato presentado como un método de laboratorio de clínica general por Kunst y otros. Esta técnica es más específica que los métodos generales de reducción y proporciona resultados inferiores que los obtenidos por dichos métodos.¹⁷

Principio del procedimiento: La hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de la glucosa por la adenosina-5-trifosfato (ATP) a glucosa-6-fosfato, que se oxida entonces a 6-fosfogluconolactona por la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-PDH) con reducción simultánea del fosfato de di nucleótido de nicotinamida y adenina (NADP). Un mol de NADP se reduce a un mol de NADPH por cada mol de glucosa presente. La absorbancia debida a la NADPH (y la consiguiente concentración de glucosa) es medida utilizando una técnica dicromática del punto final (340 y 383 nm).¹⁷



Intervalos de referencia

Suero: 70 – 110 mg/dl

6.2. Determinación de glucosa urinaria.

Las tiras reactivas para uroanálisis son bases plásticas en las que hay adheridas diversas áreas reactivas para determinar glucosa, bilirrubina, cetona, densidad, sangre, pH, proteínas, urobilinógeno, nitritos y leucocitos.

Los resultados obtenidos por las tiras reactivas proporcionan información referente al metabolismo de carbohidratos, función hepática y renal, balance ácido-base e infecciones del tracto urinario. Las tiras reactivas están listas para utilizarse y son desechables. Estas pueden ser leídas visualmente aunque existen presentaciones que pueden ser leídas instrumentalmente empleando autoanalizadores.

Las instrucciones deben seguirse correctamente, considerando los tiempos de espera para cada parámetro así como los procedimientos de almacenaje y utilización. Los valores mínimos detectables para la mayoría de las tiras se resumen en la tabla 1.⁶

TABLA 1. Parámetros mínimos detectables en las tiras reactivas y su sensibilidad.

Área Reactiva	Tiempo de Lectura	Sensibilidad
Glucosa	30"	75-125 mg/dL
Bilirrubina	30"	0.4-0.8 mg/dL
Cetona	40"	5-10 mg/dL (Acido acetoacético)
Sangre	60"	0.015-0.062 mg/dL (Hemoglobina)
Proteína	60"	15-30 mg/dL (Albúmina)
Nitritos	60"	0.06-0.1 mg/dL (Ion nitrito)
Leucocitos	2'	5-15 células /dL
pH	60"	5.0-8.5
Densidad	45"	1.000-1.030

La glucosa y bilirrubina, presentan un tiempo de lectura menor (30") mientras que el tiempo máximo de lectura es de 2' para los leucocitos. Los cambios de color que solo aparecen en los bordes de las zonas reactivas o después de transcurridos más de 2 minutos, carecen de importancia diagnóstica.

Es posible no encontrar una concordancia exacta entre el resultado determinado de manera visual sobre las tiras y el resultado obtenido por algún método instrumental, esto puede deberse a las diferencias inherentes entre la percepción del ojo humano y el sistema óptico del instrumento.

Principio. La determinación de glucosa se basa en la reacción específica de la glucosa-oxidasa/peroxidasa (método GOD/POD). El ensayo no depende del pH ni del peso específico de la orina ni se ve afectado por la presencia de cuerpos cetónicos.

La glucosa oxidasa, cataliza la oxidación de β -D-glucosa por oxígeno molecular formando ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. En una segunda reacción la enzima peroxidasa cataliza la oxidación de un aceptor incoloro de oxígeno (cromógeno reducido) por el H_2O_2 producido, formando un producto coloreado (cromógeno oxidado). La cantidad de producto coloreado que se forma es proporcional a la glucosa presente inicialmente.⁶



6.3. Determinación de Hemoglobina Glucosilada¹⁷

El ensayo HA1c utilizado en el sistema de química clínica es un ensayo de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa del porcentaje de hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre total anticoagulada. Las mediciones del porcentaje de hemoglobina A1c son útiles en la monitorización a largo plazo del control de glucosa en pacientes con diabetes mellitus.

La HbA1c es el producto de una reacción no enzimática entre la glucosa y la hemoglobina A1. El eritrocito humano es libremente permeable a la glucosa, que puede combinarse no enzimáticamente con la hemoglobina para formar HbA1c. Esta reacción no enzimática entre el grupo alfa-amino N-terminal de la valina de la cadena beta de la hemoglobina y la glucosa origina primariamente una aldimina inestable o base intermedia de Schiff (fracción lábil). Esta reacción es lenta y reversible, produciéndose a una velocidad proporcional a la concentración de glucosa en sangre.

La aldimina intermedia experimenta posteriormente una reestructuración de Amadori no reversible para formar la cetoamina 1-glucofruvalina estable. Dado que la reacción está dirigida por la concentración de reactantes, el grado de glucosilación (informado como porcentaje de HbA1c) es proporcional a la concentración media de glucosa en sangre durante el período de vida circulante de la hemoglobina en el glóbulo rojo (aproximadamente 120 días).

La utilidad de las mediciones del porcentaje de HbA1c se ha demostrado en el ensayo de control y complicaciones de la diabetes (DCCT). Un hallazgo significativo de este estudio fue la correlación directa entre el control glucémico y la evolución del paciente con respecto a las complicaciones a largo plazo.

Los pacientes con mejor control glucémico (es decir, menor HbA1c) mostraron un pronóstico significativamente mejor con respecto a las complicaciones microvasculares, incluyendo neuropatía, retinopatía y nefropatía.

El ensayo HA1c mide tanto la hemoglobina como la HbA1c. La medición de HbA1c se basa en un principio de inmunoensayo de inhibición turbidimétrico (TINIA) y la medición de la hemoglobina total se basa en una modificación de la reacción de hematina alcalina.

Utilizando los valores obtenidos para cada uno de estos analitos (en g/dL), el porcentaje de hemoglobina total que se ha glucosilado se calcula e informa como porcentaje (%) de HbA1c.

El resultado final de % de HbA1c se ha estandarizado con los resultados obtenidos en el ensayo de control y complicaciones de la diabetes (DCCT).

No es necesario el pretratamiento para eliminar la fracción lábil, ya que sólo se detecta la forma reestructurada de Amadori de HbA1c. Este ensayo mide todas las variantes de hemoglobina glucosilada en el N terminal de la cadena beta que se presentan epítomos idénticos al de la HbA1c.

Principio del procedimiento. Se añade una muestra de sangre total a la primera cubeta que contiene reactivo hemolizante. Este reactivo hemoliza los glóbulos rojos y simultáneamente convierte la hemoglobina libre en un derivado que presenta un espectro de absorbancia característico.

Una alícuota de la sangre total hemolizada se transfiere de la primera cubeta a una segunda, donde se mide, a 405 y 700 nm, la concentración de hemoglobina total.¹⁷

Sangre total + hemolizante → Hemoglobina libre → derivado de hemoglobina
(medida a 450 nm)

La misma alícuota de sangre total hemolizada que se ha transferido de la primera a la segunda cubeta para la medición de Hb también se utiliza para la medición de HbA1c. La segunda cubeta contiene un anticuerpo antiHbA1c en un reactivo tamponado. La HbA1c de la muestra reacciona con el anticuerpo antiHbA1c para formar un complejo antígeno-anticuerpo soluble.

A continuación se añade a la cubeta un reactivo polihapteno que contiene múltiples epítomos de HbA1c. El polihapteno reacciona con el exceso de anticuerpos antiHbA1c (libres) para formar un complejo anticuerpo-polihapteno insoluble. La velocidad de esta reacción se mide turbidimétricamente a 340 nm con blanco a 700 nm y es inversamente proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra.

Hemoglobina A1c + anticuerpo anti-HbA1c → Complejo HbA1c- anticuerpo anti -HbA1c

Anticuerpo anti-HbA1c (exceso) + polihapteno → Complejo Ab/polihapteno
(absorbe a 340 nm)

Sensibilidad: La sensibilidad del método es de 0.2 g/dL. Esta sensibilidad se define como la concentración a dos desviaciones estándar por encima de una muestra desprovista de HbA1c como el nivel 1 del calibrador de HbA1c (suero salino normal de 0.00g/dl) n=20.

Intervalos de referencia

Los valores esperados para individuos metabólicamente sanos están entre:

4.8 – 6.0 % HbA1c

Para los pacientes diabéticos se considera:

Bien controlado 6 -9 %

No controlada 9 – 12%

En zona de peligro 12 – 14%

Inferior a 2.5 % exceso de tratamiento.

7. EXAMEN GENERAL DE ORINA

El examen general de orina es una prueba muy importante en los individuos que ingresan al hospital y muchas veces forma parte del estudio integral del paciente. Es uno de los indicadores más útiles de salud o enfermedad.¹⁸

Este análisis tiene dos propósitos. El primero es detectar anomalías en las que el riñón funciona normalmente pero excreta cantidades anormales de productos metabólicos específicos para determinada enfermedad. El segundo propósito es detectar alteraciones que modifican el funcionamiento de los riñones o del aparato urinario. Los riñones enfermos no funcionan normalmente para regular el volumen y la composición de los líquidos del organismo ni para mantener la homeostasis.¹⁸

El examen general de orina es muy útil para diagnosticar nefrosis (degeneración del riñón sin inflamación); nefritis (inflamación del riñón), pielonefritis (infección bacteriana) o glomerulonefritis (sin infección) y cistitis (inflamación vesical).¹⁸

En general la glucosa en orina suele aparecer cuando el nivel en sangre es superior a 180 o 200 mg/dL. El nivel en sangre, el flujo sanguíneo glomerular, el índice de reabsorción tubular y el flujo urinario influyen en su aparición.¹⁹

Aunque la hiperglucemia sola no es necesariamente indicativa de diabetes mellitus, la aparición de glucosa en la orina se considera signo de alarma que exige someter al paciente a un estudio diagnóstico de esta afección. El paciente diagnosticado de diabetes mellitus presenta hiperglucemia que comporta glucosuria cuando se supera el umbral renal para la glucosa.¹⁹

Para los diabéticos, la ventaja de una prueba urinaria sobre la prueba hemática para la glucosa es que es indolora y barata. Sin embargo las tiras reactivas son difíciles de interpretar a niveles de 1 g/dL (1%) y 2 g/dL (2%) de glucosa.¹⁹

Las pruebas de glucosa en orina, son generalmente útiles para el paciente que no precisa realizar ajustes de la dosis de insulina. En la diabetes insulino dependientes una prueba de orina negativa puede corresponder a un amplio margen de niveles de glucosa en sangre, esto se atribuye a la gran variación del umbral renal para la glucosa en los diabéticos. En los diabéticos inestables, por lo tanto, las pruebas de orina pueden ser engañosas y se aconseja vigilar la glucosa en sangre.¹⁹

8. TOMA DE MUESTRAS

La obtención de una muestra constituye el primer paso de toda determinación analítica, así como las técnicas empleadas para la manipulación de las muestras, desde el instante en que se ha obtenido, hasta que se comienza el análisis en sí, siguen y seguirán siendo absolutamente fundamentales, sea cual sea la utilidad analítica.

Para que la muestra sea útil desde el punto de vista biológico, es necesario que sea a la vez representativa y homogénea. Esto quiere decir que al organizar las técnicas para la toma de muestra, conservación de la misma y transporte desde la cabecera del lecho del paciente hasta el laboratorio, hay que tener presentes todos los problemas relacionados con la preparación del enfermo para los estudios que se quieran llevar a cabo, la estabilidad de los metabolitos que se van a analizar, las interferencias que pueden producirse en la determinación consecutivas a una técnica defectuosa en la extracción y conservación de las muestras y las interrelaciones de todos estos aspectos con el transporte de la muestra ya extraída hasta el laboratorio.²⁰

8.1. Preparación del paciente.

Los factores relacionados con el paciente que pueden afectar los resultados se pueden dividir en aquellos que no se pueden modificar y los que pueden controlarse por medio del paciente, el personal del laboratorio o el médico. El primer tipo de factores incluye la edad, el sexo, el origen étnico, el embarazo, la fase del ciclo menstrual y su documentación correcta al tomar la muestra para incluirlos en la interpretación.²¹

El segundo tipo de factores sin embargo, a menudo requiere de una intervención activa y control para que los resultados tengan sentido.

La tensión mental (stress) o física puede afectar los niveles de muchos constituyentes de los líquidos corporales.

Muchos otros metabolitos como la glucosa y el colesterol, así como las proteínas transportadoras “la transferrina”, junto con los factores de coagulación y las células sanguíneas pueden ser afectados por periodos largos de tensión.

Evitar el ejercicio o trabajo muscular vigoroso durante tres días previos a la toma de una muestra. El ejercicio más suave, incluyendo la flexión excesiva del antebrazo antes de una punción venosa, provoca cambios en iones potasio, glucosa y algunas enzimas y también debe evitarse inmediatamente antes de la toma de una muestra.²¹

La situación dietética del paciente puede ser revelante para la medición que se vaya a efectuar. La concentración plasmática de muchos de los compuestos que se miden comúnmente varía dependiendo del tiempo transcurrido desde la última comida y se requiere de un ayuno de 12 horas para obtener una medición e interpretación correcta. Las variaciones en la concentración de lípidos después de una comida grasosa han sido especialmente bien documentados.²¹

El suero sanguíneo muestra una apariencia lechosa debido a la presencia de triglicéridos y quilomicrones. Estos sueros hiperlipidémicos influyen en las mediciones y, aunque no siempre sea factible, es recomendable tomar muestras después de un periodo de ayuno, usualmente de toda la noche, para cualquier investigación.²¹

La ingestión de etanol induce cambios en la composición de los líquidos corporales que dependen del tipo de bebedor que sea el paciente, ya sea que se abuse o que sea un bebedor fortuito, y del lapso de tiempo que haya pasado después de la ingestión de alcohol. De particular interés son las enzimas hepáticas, por ejemplo, fosfatasa alcalina, aspartato transaminasa, gama glutamil transferasa, aunque, también se modifican otros componentes como glucosa, triglicéridos, urato y lactato.²¹

8.2. Muestreo.

La muestra debe tomarse correctamente y bajo las condiciones más favorables para evitar errores de interpretación. Por ejemplo la toma de muestras de sangre puede causar mucha ansiedad a los pacientes, y por tanto, deben cuidarse el ambiente, la accesibilidad del material y reconfortar al paciente durante el procedimiento.

La identificación correcta del paciente es esencial, sin embargo, no es raro que se cometan errores. Es importante etiquetar cada muestra inmediatamente en presencia del paciente con información suficiente para evitar confusión con otras muestras.

El tipo de muestra para una investigación debe recogerse con cuidado. Una muestra de sangre puede ser de sangre arterial, venosa o capilar; los resultados de algunas cantidades difieren dependiendo del tipo de muestra tomada.²¹

Como muchas de las situaciones mencionadas varían dependiendo de la característica a observar, se debe verificar que el paciente haya seguido las instrucciones adecuadamente antes de tomar la muestra. Cualquier comportamiento distinto debe quedar registrado en la solicitud.²¹

8.3. Sangre

La sangre es el fluido corporal más utilizado con fines analíticos. Los tres procedimientos habituales para obtener sangre son: 1) punción cutánea; 2) punción venosa y 3) punción arterial.

La técnica utilizada para la obtención de muestras de sangre es fundamental para mantener su integridad. En cualquier caso, la sangre arterial y venosa se diferencia en algunos aspectos que deben ser tomados en cuenta.

La sangre, oxigenada por el pulmón, es bombeada por el corazón hacia todos los órganos y tejidos para cubrir las necesidades metabólicas.

Esta sangre arterial tiene una composición prácticamente uniforme en todo el organismo. Por el contrario, la composición de la sangre venosa varía según la actividad metabólica del órgano o tejido perfundido, por lo que el punto en que se extrae la muestra puede influir en la composición de la sangre venosa. La sangre venosa tiene menos oxígeno que la arterial, pero también se diferencia de ésta por su pH, su concentración de dióxido de carbono y su hematocrito.

A veces varían también las concentraciones de glucosa, ácido láctico, cloro y amonio.¹⁹

La sangre obtenida por punción de la piel, que a veces se denomina incorrectamente sangre capilar, es una mezcla de sangre procedente de arteriolas, vénulas y capilares y, por tanto, es en parte arterial y en parte venosa. El aumento de presión en las arteriolas hace que la muestra sea más rica en sangre arterial. La sangre de punción cutánea también contiene líquido intersticial e intracelular.

8.4. Punción venosa

La relativa facilidad con que se obtiene la sangre venosa hace de esta técnica el principal método de obtención de sangre en los laboratorios de análisis clínicos. Otra ventaja importante es que la mayoría de las sustancias analizadas se encuentran presentes en forma soluble o dispersas de forma homogénea. Sin embargo, hay que considerar varias fuentes de posibles errores que se presentan durante la preparación del sujeto para la venopunción.¹⁹

La venopunción se realiza con agujas conectadas a tubos de ensayo de vidrio con un vacío determinado. Los tapones tienen un código de colores que permite distinguir si el tubo contiene un determinado anticoagulante (heparina, oxalato, citrato o sales del ácido etilendiaminotetracético EDTA). Los tubos también pueden ser estériles o no y hallarse cubiertos o no de silicona.

A partir de la sangre sin anticoagulante se obtiene suero; si la sangre contiene anticoagulante, se obtiene plasma. Del plasma forma parte el fibrinógeno, sustancia de la que carece el suero.

La heparina, en forma de sal de litio, es un anticoagulante eficaz en pequeñas cantidades. No tiene efectos significativos en muchas determinaciones y es el anticoagulante universal ideal para la sangre. Para las determinaciones de glucosa se puede añadir fluoruros a la heparina. Estas sales inhiben la glucólisis de los hematíes, que de otro modo podrían destruir la glucosa a una velocidad aproximada de un 5% por hora.¹⁹

Cuando existe contaminación bacteriana de las muestras de sangre, la inhibición de la glucólisis por fluoruro no resulta eficaz para conservar la concentración de glucosa. Por otra parte, la separación inmediata del plasma o del suero de las células es importante para obtener una muestra adecuada en la mayoría de las determinaciones químicas.

Existen tubos separadores de suero que se emplean para obtener suero a partir de la sangre total. Un tubo de vidrio al vacío sirve como sistema cerrado tanto para la recogida como para el procesamiento de la muestra de sangre. Durante el centrifugado, la sangre se hace pasar por un filtro de gel de sílice localizado en la base del tubo, que modifica temporalmente su viscosidad. El peso específico del gel es intermedio entre el de los hematíes y el del suero, de forma que el gel va subiendo y se sitúa entre los hematíes alojados en el fondo y la capa superior de suero. Finalmente se endurece y forma una barrera inerte.¹⁹

Las ventajas de los tubos separadores de suero son: 1) su fácil manejo; 2) un tiempo de procesamiento más corto por la actividad del coágulo; 3) obtención de una mayor cantidad de suero; 4) posibilidad de proceder a la centrifugación en una sola fase; 5) la utilización del mismo tubo en el que se ha extraído la muestra, 6) un fácil etiquetado.

8.4.1. Técnica de la punción venosa.¹⁹

1.- Se verifica que las etiquetas coincidan con las solicitudes de laboratorio.

2.- Se identifica al paciente. Si el paciente está consciente, hay que preguntarle su nombre completo y su fecha de nacimiento. Si se encuentra inconsciente, debe verificarse a través de una enfermera, un familiar o un acompañante.

En los casos urgentes hay que identificar al paciente en el momento de la extracción de la sangre. Si se desconoce su identidad, debe asignársele una identificación temporal. No hay que extraer muestra alguna sin identificar adecuadamente al paciente.

3.- Si se solicita una muestra en ayunas, debe comprobarse que efectivamente el paciente no ha ingerido alimentos.

4.- Hay que dirigirse al paciente e informarle sobre el procedimiento a que va a ser sometido. Se debe tranquilizar, eliminando en lo posible su tensión.

5.- Se ha de colocar adecuadamente al paciente, según éste se encuentre sentado o en decúbito prono, para tener acceso fácil y cómodo a la fosa ante cubital.

6.- Hay que preparar todo el material incluidos los tubos para recogida de la muestra, el torniquete, los objetos que se emplean para limpiar la piel, las jeringas, cuando sea necesario, la aguja estéril para extracción de sangre y el dispositivo utilizado para fijar la aguja al tubo de extracción al vacío .

7.- Se solicita al paciente que cierre el puño para que las venas resulten más palpables.

8.- Se selecciona una vena adecuada para la punción. Se prefieren las venas de la fosa ante cubital, en particular la cubital interna y la cefálica. También pueden utilizarse las venas de la muñeca, el tobillo y la mano. Si existiera ya un catéter intravenoso en un brazo, se utilizará el otro para la extracción de la muestra.

9.- Se limpia la zona de la venopunción con una torunda mojada en solución de alcohol etílico al 70% o yodopovidona al 1%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia fuera siguiendo un movimiento en espiral. Se deja que la zona se seque y no se toca con ningún objeto que no haya sido esterilizado previamente.

10.- Se aplica un torniquete varios centímetros por encima de la zona de punción. No hay que dejar nunca el torniquete más de un minuto.

11.- Se fija firmemente la vena tanto por encima como por debajo del lugar de punción con ayuda de los dedos pulgar y medio o índice y pulgar.

12.- Se realiza la venopunción.

a) Se penetra a través de la piel con la aguja (calibre 21G x 38 mm ó 0.8 x 38 mm) formando un ángulo de aproximadamente 15 grados con el brazo y con el bisel hacia arriba. Se sigue la dirección de la vena con la aguja.

b) Se introduce la aguja con suavidad pero con la suficiente rapidez para reducir las molestias del paciente. No hay que “enterrar” la aguja.

c) Si se utiliza una jeringa, se tira hacia atrás del émbolo, con tensión lenta y uniforme a medida que la sangre va fluyendo en su interior: No debe realizarse este movimiento con excesiva rapidez, ya que podría hemolizarse la sangre o colapsarse la vena.

d) Si se utiliza un tubo al vacío, en cuanto la aguja haya penetrado en la vena, se dirigirá el tubo todo lo posible hacia delante en el dispositivo de sujeción. Al mismo tiempo se sujeta tenuemente la aguja en su lugar. Una vez que se haya llenado el tubo, se retira, cogiéndolo por su extremo y tirando suavemente de él.

13.- Cuando la sangre tiende a fluir, se suelta el torniquete.

14.- Una vez que se haya extraído toda la muestra, hay que indicar al paciente que relaje el puño y que no bombee con la mano.



FIG.6. PUNCIÓN VENOSA. La muestra sanguínea se obtiene aplicando un torniquete varios centímetros por encima de la punción, se selecciona la vena y se procede a puncionar, cuando la sangre fluye el torniquete es retirado.

15.- Se coloca suavemente sobre el punto de la punción una bola de algodón estéril. Se extrae la aguja y a continuación se ejerce presión sobre la zona.

16.- Se venda el brazo. En general es suficiente una tira de tela adhesiva sobre la bola de algodón para detener la hemorragia.

17.- Se mezclan los tubos con anticoagulante. Si la muestra ha sido extraída con jeringa, se transferirá la sangre a los tubos correspondientes tomando las debidas precauciones para evitar la hemólisis de las muestras. Se seguirán las instrucciones especiales de manejo si las hubiere.

18.- Se comprobará el estado del paciente; se verificará, por ejemplo si se ha mareado y si la hemorragia está controlada.

19.- Se elimina el material contaminado; agujas, jeringas, algodones, etc.

20.- Se marcan las etiquetas y se registra la hora en que se extrajeron las muestras.

21.- Se envían los tubos de sangre para su análisis a los correspondientes departamentos del laboratorio. Si es preciso se hace constar la hora en el impreso de solicitud.

8.5. Orina.

La obtención y conservación de orina con fines analíticos debe efectuarse mediante un procedimiento cuidadosamente preestablecido para que los resultados sean válidos. Las pruebas analíticas de orina se diferencian generalmente en tres categorías: químicas, bacteriológicas y de examen microscópico.¹⁹

Es posible obtener la muestra para el examen general de orina clásico en cualquier momento, pero la primera muestra de la mañana, la de ayuno o las programadas deben recolectarse en momentos específicos del día. La preparación del paciente varía con el tipo de muestra requerida y la capacidad del paciente para cooperar con la recolección.

Para obtener buenos resultados, es muy importante dar instrucciones claras al paciente y valorar si ha comprendido. Además, es necesario investigar los patrones habituales de micción del paciente y alentarlos para que ingiera líquidos, a menos que exista una contraindicación.

Determine si existen factores que interfieran: que el paciente no pueda seguir las instrucciones para la recolección, que no haya ingerido suficientes líquidos, que tome ciertos medicamentos o que utilice fármacos o drogas. Los alimentos contraindicados y en algún caso cualquier tipo de alimento, alteran resultados de la prueba.¹⁸

8.5.1. Tipo de muestra.

-Muestra aleatoria de orina.¹⁸

La mayoría de las pruebas se realizan en una sola muestra aleatoria de orina reciente. Debido a que la composición de la orina cambia a lo largo del día, el momento en que la muestra se recolecta influye sobre los resultados. La orina de la mañana es esencialmente útil, ya que suele ser mas concentrada y, por lo tanto, es más probable que revele anormalidades y la presencia de sustancias.

También está relativamente libre de las influencias de la dieta y de los cambios que se producen por la actividad física, ya que se recolecta después de un periodo de ayuno y reposo. Debido a que en el examen general de orina se mide la concentración de las sustancias, los resultados varían con la hora del día en que se recolecta la muestra.

-Muestra de largo plazo o de 24 hrs.¹⁸

En algunas enfermedades se necesita una muestra de orina programada o de 24 h para estudiar en forma precisa el funcionamiento de los riñones. El riñón no excreta las sustancias a la misma velocidad ni en las mismas cantidades durante las diferentes horas del día y la noche; por lo tanto una muestra de orina tomada al azar no siempre proporciona un cuadro preciso del proceso que se lleva a cabo durante las 24 h.

Para esto, la orina debe colocarse en un recipiente adecuado añadiéndole conservador, manteniéndola refrigerada, o ambas cosas.

8.5.2. Técnicas habituales de recolección.¹⁹

Existen ciertas consideraciones importantes que hay que recordar al recoger una muestra de orina para su estudio. Si se siguen las normas indicadas, es menos probable que se produzcan errores en la interpretación de los resultados. Hay que darle al paciente instrucciones escritas para la recolección de todas las muestras de orina.

8.5.3. Obtención de una muestra limpia a mitad de la micción.¹⁹

8.5.3.1. Varón.

1.- En el varón debe exponerse adecuadamente el glande. Limpiarse completamente con una solución antiséptica suave y secarlo. En el varón incircunciso se retrae el prepucio para evitar la contaminación con restos que hayan quedado debajo, y se limpia completamente toda la zona.

2.- Se recoge la orina de la fase media de la emisión en un frasco estéril, una vez desechado el flujo inicial.

8.5.3.2. Mujer.

1.- Si se trata de una mujer, se le pide que se acuclille o arrodille sobre un orinal o que se mantenga en pie sobre éste. Aunque la paciente puede recoger su propia orina en buenas condiciones, si recibe ayuda las probabilidades de contaminación serán menores.

2.- Ella o la enfermera separarán, usando guantes estériles, los labios menores (a fin de exponer el orificio uretral) y los mantendrán separados durante toda la operación.

3.- Se limpiará cada lado del meato urinario con torundas jabonosas, enjuagando después con torundas estériles empapadas en agua.

4.-Se debe instruir a la paciente para que emita la micción con fuerza, desechando el chorro inicial y manteniendo siempre separados los labios.

5.- Se recoge entonces el chorro miccional en un frasco estéril, sin permitir que este entre en contacto con el periné. Es preciso recoger unos 30 a 100 ml de orina. Después se permite la aproximación de los labios y la continuación de la micción.

6. – Si existe la posibilidad de que la muestra esté contaminada con secreción o flujo menstrual, se debe tomar otra muestra limpia. Puede ser necesario taponar la vagina o emplear un tampón en ciertos casos, es especial si el estudio del sedimento urinario resulta crítico.

8.5.3.3. Lactantes y niños.

Las muestras de lactantes y niños pequeños se recolectan en una bolsa adherible, que se coloca al rededor del área perinatal o del pene y así el niño orina directamente en la bolsa: posteriormente se retira con cuidado y la orina se transfiere a un recipiente adecuado.

8.5.3.4. Pacientes con sonda

Si se toma una muestra a través de una sonda de permanencia, ésta se debe pinzar durante 15 min. La salida de la sonda se limpia con una solución antiséptica antes de aspirar la muestra de orina con aguja y jeringa.

8.5.4. Recolección de orina de 24 h.¹⁸

- 1.- Al principio de la recolección programada, se pide al paciente que orine. Esta primera muestra se descarta y se anota la hora.
- 2.- En el recipiente se coloca una etiqueta con la hora en al que comienza la prueba y la hora en que debe terminar. Como recordatorio, en ocasiones es útil poner una señal en el inodoro “recolección de 24 h”, con la hora de inicio y terminación.
- 3.- Toda la orina excretada en las siguientes 24 h se debe recolectar en algún recipiente grande (generalmente de vidrio o polietileno) que se rotula con el nombre del paciente, el horario de recolección, la prueba ordenada y demás datos pertinentes.
- 4.- Para concluir la recolección, el paciente debe orinar 24 h después de su primera micción. La orina de esta última micción se añade a la muestra.

9. CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS.¹⁹

Las muestras de orina deben ser recogidas en un recipiente limpio y seco, y examinarse recién evacuada, dentro de las dos primeras horas. Si el análisis ha de retrasarse, las muestras de orina pueden ser refrigeradas o conservadas. En la orina que ha permanecido durante varias horas a la temperatura ambiente, los eritrocitos, leucocitos y cilindros se descomponen. En las orinas hipotónicas y alcalinas desaparecen rápidamente.

Empleando buenas técnicas de recolección, Kierkegaard (1980) demostró una pérdida del 35% de los neutrófilos al efectuar los recuentos, como promedio, 1.4 h después de la emisión y de nuevo a las 4.5 h de ésta. La bilirrubina y el urobilinógeno disminuyen, sobre todo si existe exposición a la luz. Las células y las bacterias presentes utilizan la glucosa; por su parte, las cetonas son también utilizadas o se volatilizan. Otro problema es la contaminación bacteriana, que da lugar a una alcalinización de la orina como resultado de la degradación de la urea en amoníaco por las especies de *Proteus*. Con la pérdida de CO₂, el pH se eleva.

Se produce una turbidez secundaria a la multiplicación bacteriana y a la precipitación alcalina. El color cambia (en general se hace más oscuro) y el olor termina por hacerse hediondo. Sin embargo si hay una elevada cantidad de glucosa, las bacterias y las levaduras la convertirán en alcohol y ácidos y el pH descenderá.

Deben estudiarse muestras recientes de orina, escogidas al azar, dentro de las dos primeras horas después de la micción o bien refrigerarse la orina y estudiarla tan pronto como sea posible.

Si la muestra no se refrigera dentro de la primera hora después de la recolección, se producen los cambios siguientes en la composición.

- a. Las bacterias en la orina “rompen” la urea, convirtiéndola en amoníaco, con lo que se alcaliniza la orina.
- b. Los cilindros urinarios suelen descomponerse después de varias horas.
- c. Los eritrocitos son lisados por la orina hipotónica.

Un pH demasiado alto o demasiado bajo altera los componentes celulares.

Tanto la materia fecal como las secreciones vaginales y la sangre menstrual contaminan la muestra de orina. Es necesario obtener una muestra limpia.

9.1. MUESTRA URINARIA.¹⁹

9.1.1. Refrigeración.

Si se prevé retraso, el laboratorio debe insistir en que las muestras sean refrigeradas (4° C) antes de ser enviadas. Incluso a las temperaturas de refrigeración se pierden algunas células.

En general, muchas de las sustancias para determinación química cualitativa o cuantitativa, así como las células y cilindros, se conservan mejor cuando la refrigeración va acompañada de un pH ácido (alrededor de 6) sin empleo de conservadores.

Las determinaciones cuantitativas de creatinina y proteínas se realizan en muestras de 24 horas mantenidas en refrigeración durante la recogida y sin añadir conservadores. Pueden obtenerse resultados fiables cuando una muestra fresca ha sido apropiadamente refrigerada hasta 48 horas.

Las temperaturas que se suelen emplear son 4° C (nevera), -5 a -20° C (congelador), -70° C (hielo seco) y -142° C (nitrógeno líquido).

9.1.2. Congelación.

Es útil para tratar alícuotas de la orina que se van a usar para pruebas químicas cuantitativas. La congelación (-5° C o menos) puede ayudar a retrasar la pérdida de sustancias lábiles como el urobilinógeno, la bilirrubina y el porfobilinógeno, aunque no de forma total.

Los pigmentos fotosensibles se conservan en recipientes de color oscuro. Las partes congeladas para pruebas químicas pueden ser enviadas en recipientes especiales y hielo seco. Al descongelarlas, presentan a veces una cierta turbidez que no desaparece (posiblemente proteínas coloidales) y puede dar lugar a problemas en los análisis. La congelación-deseccación no es un método de conservación tan recomendable como la congelación, cuando se trata de analizar hormonas y otros componentes de la orina.

9.1.3. Conservadores químicos.

Los conservadores que se utilizan para las muestras de orina dependen de la sustancia que va a ser analizada y del método que se ha de utilizar. En general, los conservadores actúan como agentes antibacterianos y antimicóticos.

Los ácidos minerales y el ácido ascórbico hacen que descienda el pH. El ácido bórico inhibe la multiplicación bacteriana. El ácido benzoico, los fenoles, el timol, el tolueno, el cloroformo, el formol y los compuestos de mercurio se han empleado para evitar el crecimiento bacteriano o conservar las células.

9.1.3.1. Fluoruro sódico. La glucosa de las muestras de orina de 24 h se conserva, tradicionalmente, añadiendo fluoruro sódico para inhibir la glucólisis originada por las células y bacterias. El fluoruro sódico no afecta las levaduras (*C. albicans*), por lo que la glucosa puede ser convertida en alcohol. Se utilizan alrededor de 0.5 g de fluoruro sódico para cada envase de 3 a 4 l.

Este compuesto inhibe el reactivo que se utiliza en las tiras para análisis de glucosa (si se emplean estas para detección), pero a niveles bajos no interfieren con la prueba de la hexocinasa u otras pruebas cuantitativas. No inhibe la prueba cualitativa de la reducción de cobre, que puede utilizarse como prueba preliminar para ver si son necesarias diluciones. La xilosa urinaria puede conservarse también mediante la adición de fluoruro sódico.

9.1.3.2. Tabletas conservadoras. Las tabletas conservadoras que se utilizan para el transporte de orina destinada a análisis habituales, conservan la glucosa y otros componentes mediante liberación de formol; también contienen benzoato y mercurio, y tienen una reacción ácida.

Se utiliza una tableta de 95 mg por cada 20 ml de orina. A esta concentración, el formol no reacciona en la prueba de reducción del cobre y el conservador, utilizado de forma adecuada, no interfiere con los reactivos habituales de las pruebas de tira. El peso específico puede aumentar ligeramente (0.002)

9.1.3.3. Acido bórico. El ácido bórico, 1 g/dL; es útil para muchas hormonas y otras sustancias; con él pueden enviarse muchas alícuotas de orina a laboratorios de referencia.

El estriol y los estrógenos se conservan durante 7 días. También es posible añadir ácido bórico al envase de recogida de la muestra.

En el transporte de orina para cultivo, se utiliza una solución de 0.5 ml de ácido glicocerbórico con un tampón de formato sódico que tiene la finalidad de estabilizar la población bacteriana durante 24 h sin refrigeración en tubos estériles de 5 ml en vacío.

9.1.3.4. Ajuste del pH. Un pH muy bajo (<3) evita el crecimiento bacteriano y estabiliza sustancias como las catecolaminas, VMA o 5-HIAA. Para conseguir un pH de 1 a 2 se añaden 30ml de HCl 6N (HCl concentrado y agua a partes iguales) en un envase de plástico o vidrio de 3 a 4 l y se etiqueta adecuadamente.

No es recomendable utilizar ácido acético. Para análisis de aminoácidos es deseable que el pH sea de 3, lo que se consigue con HCl. Antes de transportar o enviar alícuotas de muestra de orina acidificadas, debe utilizarse, para comprobar el pH, un papel indicador de pH de escaso margen. Para la determinación de porfirinas, porfobilinógeno y ácido d-aminolevulínico en orina de 24 horas, se ajusta si es necesario, a un pH de 6 a 7 con ácido acético o carbonato sódico. Son preferibles los envases oscuros. La orina ha de ser refrigerada a medida que se recogen las muestras. Partes alícuotas pueden refrigerarse o congelarse.

9.1.4. Conservadores citológicos.

La orina para evaluación de células tumorales suele recogerse en un volumen igual de alcohol al 50%. Alternativamente, puede mezclarse en volúmenes iguales de fijador Saccomanno o Mucollex. La orina no fijada debe ser inmediatamente refrigerada en cuanto se evacua.

9.2. MUESTRA SANGUINEA.²²

Sangre entera. La sangre no centrifugada que se deja a temperatura ambiente hasta que coagula muestra un promedio de disminución de glucosa sérica de 7% en una hora. Un estudio más reciente

mostró disminuciones medias de los valores de glucosa plasmática de muestras de sangre heparinizada dejadas a temperatura ambiente durante períodos variables antes de la separación del plasma, de 6 % aproximadamente (5 minutos), 9% (30 minutos), 12 % (1 hora), 16% (2 horas) y 40% (4 horas).

9.2.1. Separación rápida de sangre entera.

Como el suero y el plasma no contienen actividad glucolítica, la sangre se separa no más de 30 minutos después de obtener la muestra. Se acepta generalmente que los valores de glucosa obtenidos del análisis de muestras de suero o plasma en adultos tienen un promedio solo 10% menor que la concentración original. El nivel de glucosa no cambia en plasma o suero no hemolizado libre de células durante varias horas por lo menos a temperatura ambiente y 24 horas después de ser refrigerado.²²

A diferencia de la adición de sales, este procedimiento no limita los tipos de análisis que pueden hacerse en la muestra, pero es incomodo y su éxito depende de que una persona experta en la materia se asegure de que la muestra se entregue rápidamente al laboratorio.

9.2.2. Adición de fluoruro de sodio (NaF).

El requerimiento de separación del material celular dentro de un plazo de 30 minutos puede evitarse si NaF (2.5 mg/ml de sangre) se mezcla con la sangre cuando se toma la muestra. Impide la coagulación e inhibe la glucólisis de células sanguíneas. A consecuencia de este último efecto, el valor plasmático de glucosa no cambia aunque la sangre se deje 24 horas a temperatura ambiente antes de la separación.²²

A pesar de la comodidad y lo que es más importante la prevención de errores que permite el uso de NaF, este procedimiento también tiene sus inconvenientes:

- 1) Aumento del contenido de sodio.

- 2) Pérdida de calcio por precipitación de CaF_2 .
- 3) Introducción de un inhibidor potencial de la ureasa (Ion fluoruro)

En general se requiere una muestra de sangre por separado sólo para el análisis de la glucosa si se usa NaF como preservativo.²²

9.2.3. Enfriamiento de la muestra.

Disminuyendo la temperatura de la muestra sanguínea entre 0-4° C se reduce drásticamente el índice de glucólisis por las células. Teóricamente el índice se reduce a la mitad con cada 10° C de disminución por debajo de 37° C. El enfriamiento sobre hielo disminuye el consumo de glucosa 6 a 9 veces en muestras sanguíneas de adultos y recién nacidos y estabiliza adecuadamente la glucosa sanguínea para 4 horas de conservación.²²

Se han publicado conceptos contradictorios con respecto a la efectividad del enfriamiento para la preservación de glucosa en sangre excretada. El enfriamiento estabilizó la glucosa plasmática durante 4 horas en muestras de adultos y recién nacidos. Las concentraciones de sodio, calcio, urea y cloruro no cambiaron mayormente después de 4 horas de enfriamiento.²²

10. MATERIAL Y METODOS.

Material

Agujas. (Calibre 21G x 38 mm ó 0.8 x 38 mm)

Algodón esteril.

Alcohol etílico al 70%

Tubos vacutainer para química sanguínea (tapón rojo).

Tubos vacutainer para biometría hemática (tapón lila).

Pipetas Pasteur.

Tubos de vidrio de 13 X 100 mm.

Gradilla.

Cartuchos de reactivo para determinación de glucosa sérica.

Cartuchos de reactivo para determinación de hemoglobina glucosilada.

Equipo

Analizador de química Dimension AR

Tiras de ensayo para orina COMBUR¹⁰TEST M

Centrifuga (HERMLE Z400)

10.1.- METODOLOGIA

10.1.1.- Determinación de glucosa sérica.

Se tomaron muestras sanguíneas de pacientes por punción venosa en un tubo de química sanguínea (tapón rojo), se dejó que la muestra coagulara. Enseguida se centrifugó la muestra a 3000 rpm durante cinco minutos. Posteriormente se colocaron 500 µl de suero en una de las copillas previamente identificadas.

Se realizó la programación de la muestra, paciente y estudio (glucosa sérica) en el equipo DIMENSION AR; el equipo antes de comenzar la rutina de trabajo debió de ser calibrado (VER ANEXO). Se colocó la copilla que contiene el suero del paciente programado en la posición asignada por el equipo.

Automáticamente el equipo realizó mezcla y dilución para la medición de la prueba. El método utilizado por el equipo es el de Hexoquinasa y glucosa -6-fosfato.

La absorbancia fue medida por la técnica bicrómica del punto final, entre 340 y 383 nm.

El equipo realizó la impresión del resultado y reportado en mg/dL.

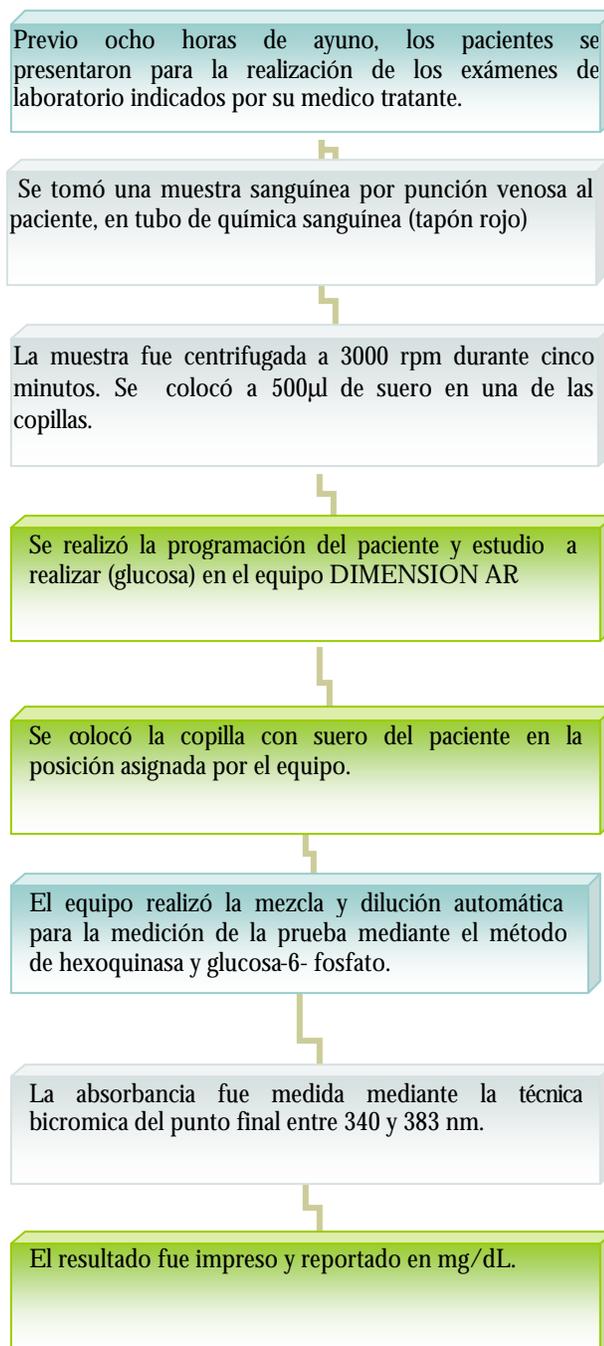


Fig. 7. Procedimiento para determinación de Glucosa sérica

10.1.2.- Determinación de hemoglobina glucosilada

Se tomó la muestra sanguínea por punción venosa, el tubo utilizado fue el de biometría hemática (tapón lila). Se realizó la programación del paciente y estudio a realizar (Hb. glucosilada), en el equipo DIMENSION AR, previa calibración. (VER ANEXO). Homogenizamos la muestra y adicionamos 500 µl de esta en la copilla previamente identificada. La copilla fue colocada en la posición asignada. El equipo realizó la determinación de la siguiente forma:

- a) Añade una muestra de sangre total a la primera cubeta, la cual contiene reactivo hemolizante.
- b) Hemoliza los glóbulos rojos, convirtiendo la hemoglobina libre en un derivado el cual tiene una absorbancia característica.
- c) Una alícuota de sangre hemolizada es transferida de la primera a la segunda cubeta.
- d) Mide la hemoglobina total a 405 y 700 nm.
- e) En esa misma cubeta (segunda) se realiza la medición de la hemoglobina glucosilada, debido a que contiene un anticuerpo antiHbA1c.
- f) La Hemoglobina glucosilada reacciona con el anticuerpo antiHbA1c formando un complejo antígeno-anticuerpo soluble.
- g) Añade a la cubeta reactivo polihapteno que reacciona con el exceso de anticuerpo antiHbA1c libre, formando un complejo anticuerpo-polihapteno insoluble.
- h) Mide la velocidad de reacción turbidimétricamente a 340 nm con blanco a 700 nm.
- i) Imprime el resultado reportado en porcentaje (%).

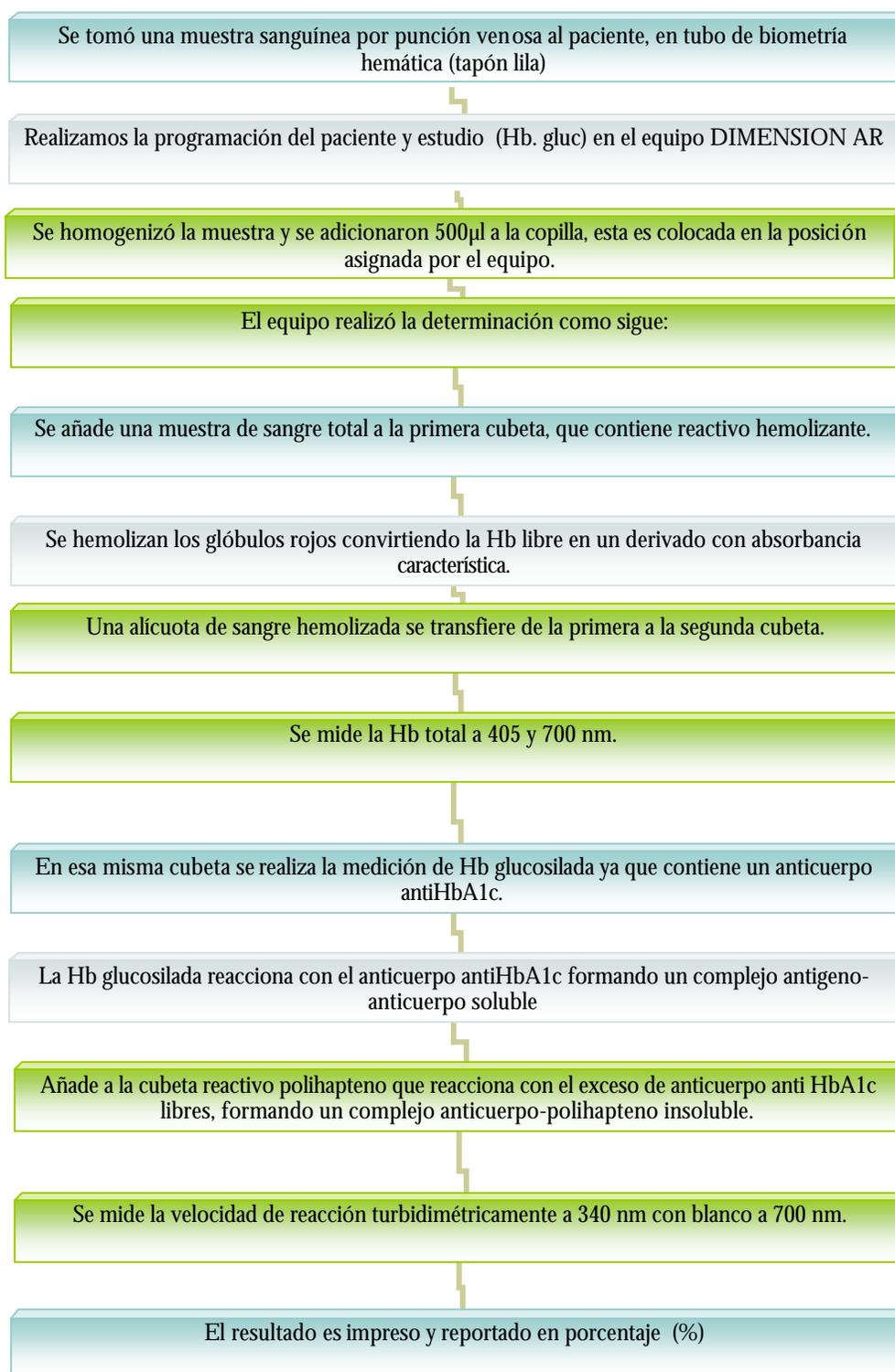


Fig.8 Procedimiento para determinación de Hb glucosilada

10.1.3.- Determinación de glucosa urinaria.

Previa indicación, se pidió al paciente que recolecte la orina de la mañana. Si la muestra no es procesada inmediatamente, se deberán tomar en cuenta las condiciones para su conservación.

Homogenizamos la muestra y se procedió a tomar una muestra de orina y colocarla en un tubo debidamente identificado. Se determinó la glucosa urinaria, introduciendo la tira reactiva al tubo de ensayo, evitando que esta permaneciera por más de un segundo dentro del tubo. Se realizó la lectura de la tira, transcurridos 30 segundos. Se comparó la tira con la tabla de color marcada en el empaque.

Se reportó la presencia de glucosa por cruces:

0 – 50 mg/dl NEGATIVO

50 – 100 mg/dl (+)

100 – 300 mg/dl (++)

300 – 1000 mg/dl (++++)

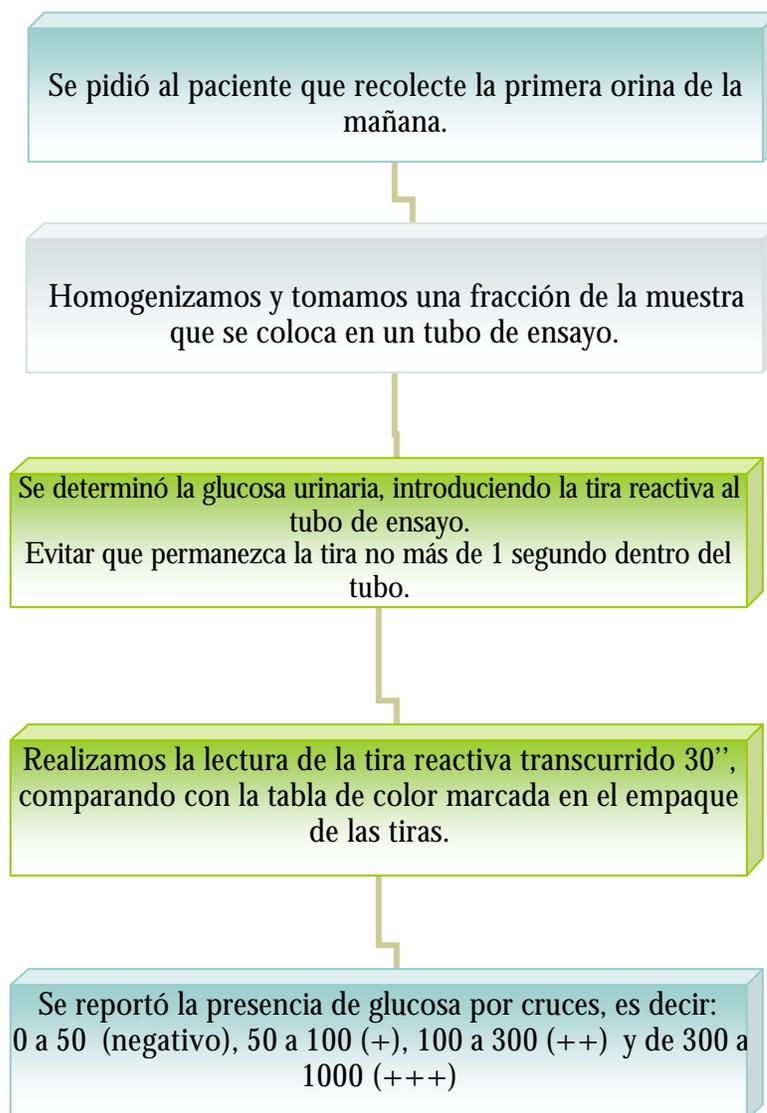


Fig. 9 Procedimiento para determinación de Glucosa urinaria

11.- RESULTADOS

Se analizan 54 pacientes, los cuales han sido diagnosticados con anterioridad como pacientes diabéticos. Estos resultados abarcan de Enero a Marzo de 2006, los pacientes fueron elegidos tomando en cuenta los estudios solicitados por el médico, es decir, solo aquellos a los que se les requirió Química Sanguínea, Examen General de Orina y Hemoglobina Glucosilada.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

TABLA 2. *Resultados de glucosas séricas, urinarias y hemoglobina glucosilada de 54 pacientes diabéticos del Hospital Regional Ecatepec.*

PACIENTE	GLUCOSA SÉRICA (mg / dL)	HB. GLUCOSILADA (%)	GLUCOSA URINARIA (+)*
1	181	8.7	++
2	142	6.6	++
3	211	9.1	+++
4	246	11.0	+++
5	154	6.7	s/m
6	176	6.3	-
7	108	7.1	+
8	82	7.7	-
9	126	8.0	-
10	271	7.6	+++
11	221	9.4	s/m
12	239	8.3	s/m
13	277	11.5	s/m
14	389	12.6	+++
15	207	8.1	+++
16	98	6.1	s/m
17	102	6.1	-
18	341	11.4	+++
19	211	8.3	s/m
20	94	6.1	-
21	166	9.2	+++
22	103	6.7	-
23	187	8.9	+++
24	108	7.2	-
25	80	8.3	-
26	114	8.8	+++
27	74	6.5	-
28	93	6.2	-
29	186	7.0	+++
30	101	6.9	-
31	115	10.2	+++

Continúa tabla 2

PACIENTE	GLUCOSA SÉRICA (mg / dL)	HB. GLUCOSILADA (%)	GLUCOSA URINARIA (+)*
32	73	18.1	-
33	68	7.6	+
34	101	7.8	-
35	115	7.5	s/m
36	297	10.7	+++
37	176	9.9	+++
38	99	6.9	-
39	261	10.5	+++
40	224	7.8	+++
41	130	6.0	-
42	86	6.5	-
43	56	6.0	-
44	92	7.3	-
45	71	7.1	-
46	93	6.9	s/m
47	169	6.6	-
48	124	9.4	-
49	275	8.6	++
50	103	6.0	s/m
51	154	7.3	-
52	100	6.4	-
53	158	6.5	+++
54	159	8.2	++

*0 a 50 mg/dl (negativo), 50 a 100mg/dl (+), 100 a 300mg/dl (++) y de 300 a 1000mg/dl (+++)

s/m = SIN MUESTRA DE ORINA. La ausencia de muestra se debido a dos causas: que la paciente se encontraba menstruando o por olvido de esta.

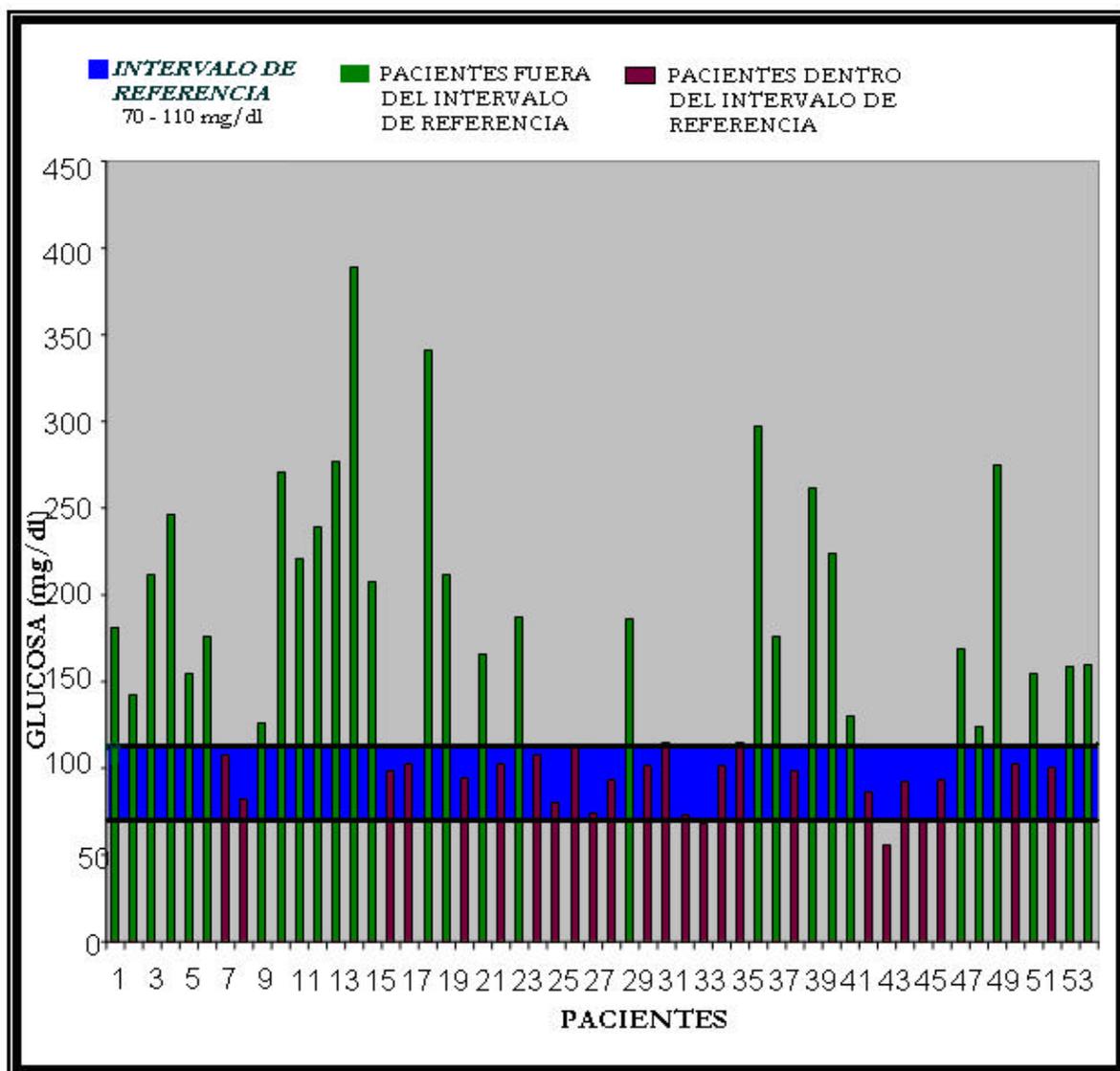


FIG. 10. EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SÉRICA EN DIFERENTES PACIENTES DEL HOSPITAL REGIONAL ECATEPEC. En este grafico se puede observar que de un total de 54 pacientes el 59.25% de estos se encuentran por encima de los valores de referencia.

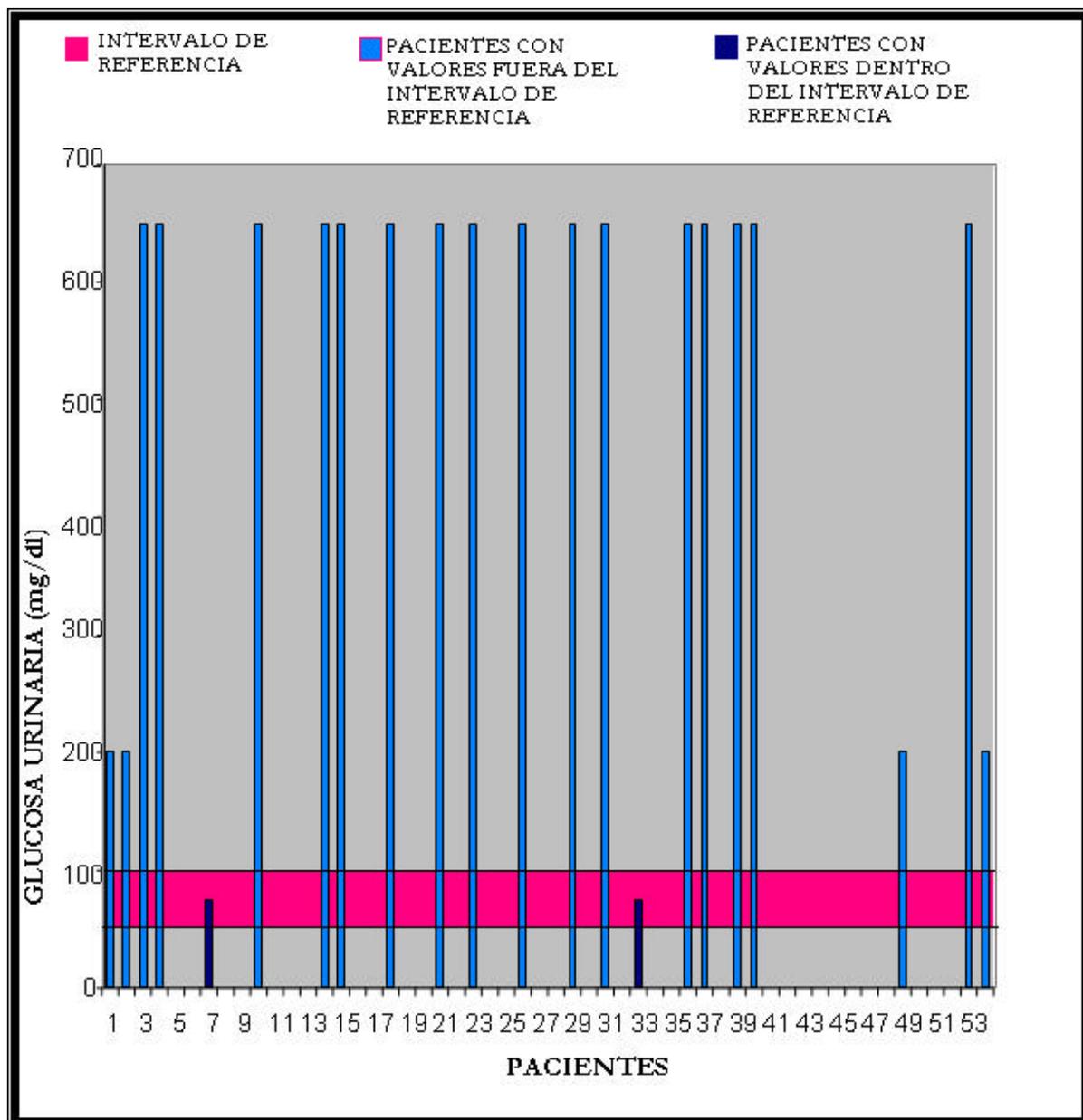


FIG. 11. VALORACION DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA URINARIA EN PACIENTES DIABETICOS DEL HOSPITAL REGIONAL ECATEPEC Los valores graficados en esta tabla fueron obtenidos convirtiendo los valores obtenidos en cruces a mg/dl, según el valor correspondiente:

(+) = 75 mg/dl
 (++) = 200 mg/dl
 (+++) = 650 mg/dl

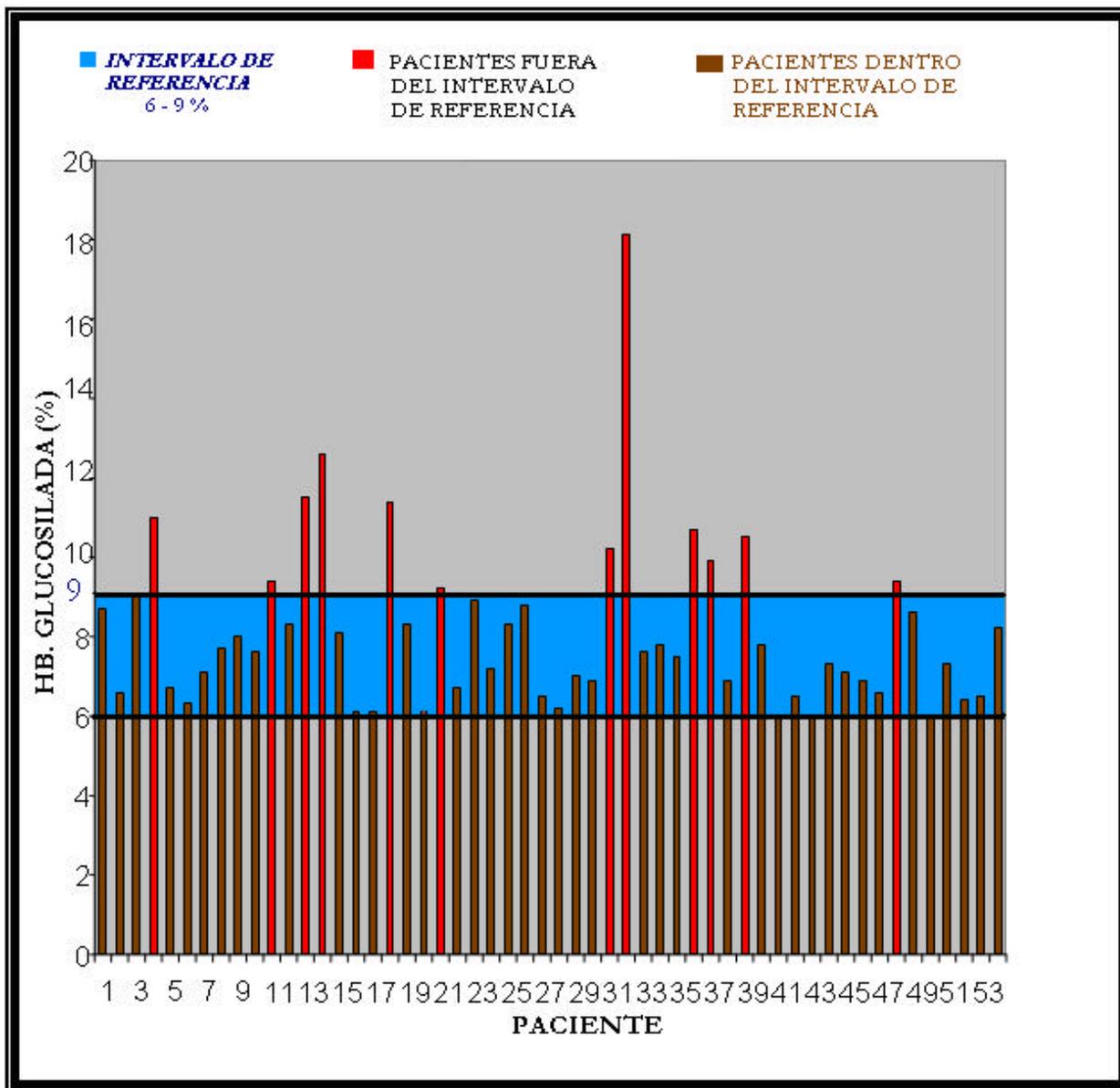


FIG. 12. COMPARACIÓN DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (%) EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II. El 75.9% de los pacientes aquí presentados, se encontraron con una hemoglobina glucosilada dentro del rango de referencia establecido.

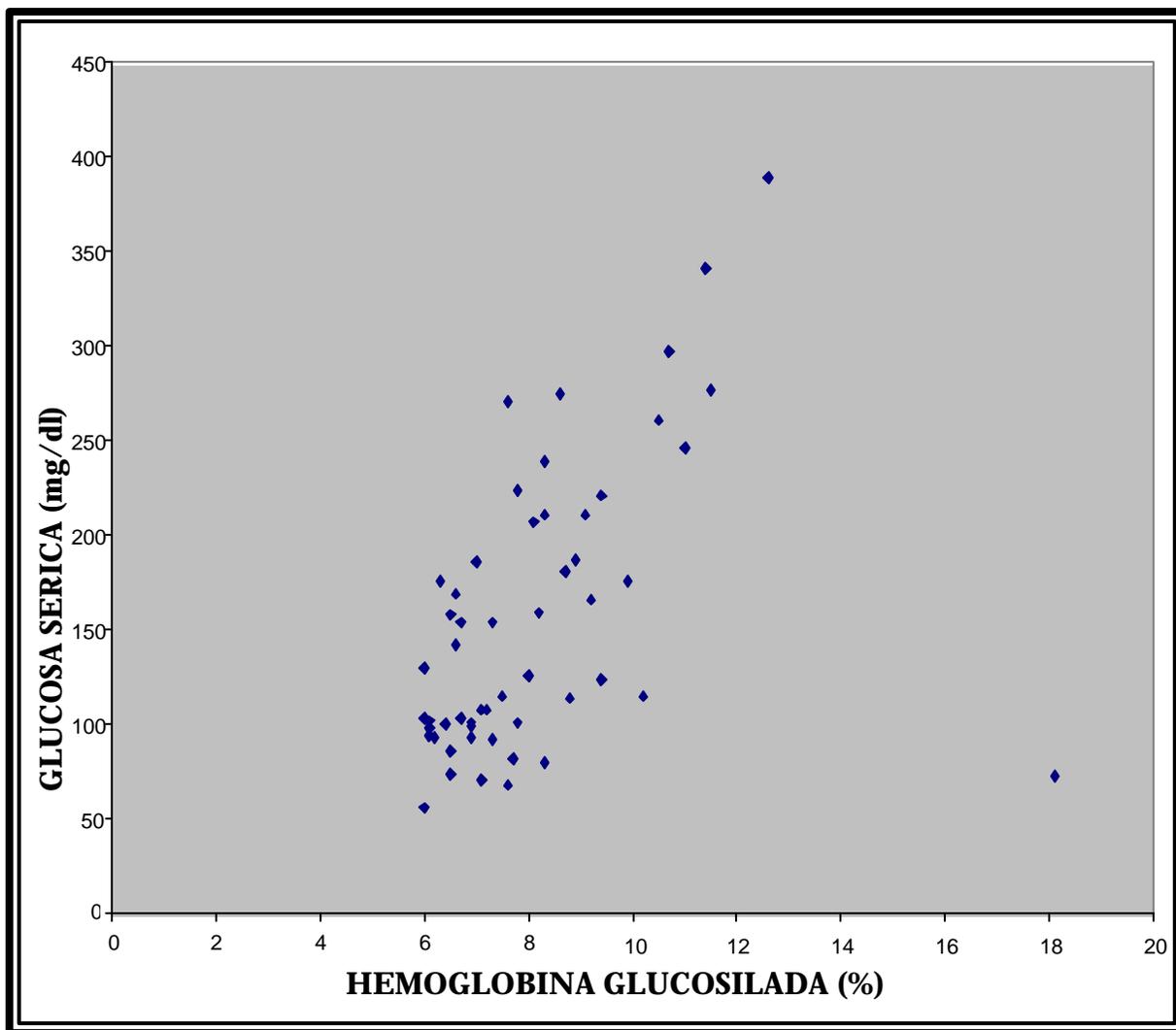


FIG. 13. GRÁFICA DISPERSA DE DATOS DE GLUCOSA SÉRICA (mg/dl) Y HB. GLUCOSILADA PARA 54 PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II, CON UN COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE 0.45 (r) Y $r^2= 0.2103$.

TABLA 3. RELACIÓN DE PACIENTES QUE PRESENTARON GLUCOSA SÉRICA ELEVADA

PACIENTE	GLUCOSA SÉRICA mg/dL	HB. GLUCOSILADA (%)
1	181	8.7
2	142	6.6
3	211	9.1
4	246	11
5	154	6.7
6	176	6.3
9	126	8
10	271	7.6
11	221	9.4
12	239	8.3
13	277	11.5
14	389	12.6
15	207	8.1
18	341	11.4
19	211	8.3
21	166	9.2
23	187	8.9
29	186	7
36	297	10.7
37	176	9.9
39	261	10.5
40	224	7.8
41	130	6
47	169	6.6
48	124	9.4
49	275	8.6
51	154	7.3
53	158	6.5
54	159	8.2

Los pacientes aquí mencionados fueron elegidos debido a que estos presentaron valores de glucosa serica por encima de el rango de referencia (70 – 110 mg/dl)

12.- ANALISIS DE RESULTADOS

La determinación de glucosa en ayuno, es el principal estudio para el control del paciente diabético, estas mediciones son solicitadas por los médicos de acuerdo a la sintomatología de los pacientes o a los exámenes periódicos realizados durante su consulta. Sin embargo, los resultados obtenidos de dichas pruebas solo nos muestran niveles de glucosa de las últimas 24 horas, es decir, solo nos indican un instante en el control metabólico del paciente.

En la fig. 10 (Evaluación de la concentración de glucosa serica en diferentes pacientes del Hospital Regional Ecatepec), podemos observar que de un total de 54 pacientes 32 de estos se encuentran por arriba de los valores normales (70- 110 mg/ dl) el cual corresponde al 59.25% de los pacientes analizados. Uno de los objetivos del tratamiento de la diabetes mellitus consiste en mantener los niveles de glucosa sanguíneos dentro de los límites normales para evitar complicaciones, así mismo tomar en cuenta que en el manejo de este tipo de enfermedades (crónico-degenerativas) influyen factores como son la herencia, el sexo, la raza y la edad, así también su dieta, actividad física, tabaquismo, obesidad, hipertensión y lípidos sanguíneos.

En la fig. 11 (Valoración de la concentración de glucosa urinaria en pacientes diabéticos del Hospital Regional Ecatepec), observamos que el 46.29% de los pacientes se encuentran dentro del límite normal (50 – 100 mg/dl).

En la fig. 12. (Comparación de las diferentes concentraciones de hemoglobina glucosilada en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II), el 24.08% (13 pacientes) presentan valores por arriba del rango que considera a los pacientes como bien controlados; 41 pacientes (75.92%) presentaron valores que los consideran como pacientes bien controlados, (valores normales de 6 – 9%).

En la fig. 13, podemos observar que el coeficiente de correlación es de 0.45, lo que no significa que no hay relación entre ambas variables, si no que no están linealmente relacionadas. En estudios biológicos con frecuencia las características sujetas a medición pueden presentar características poco definidas o subjetivas debido al uso de aparatos de medición poco precisos.

A través de el valor calculado del coeficiente de determinación ($r^2 = 0.2103$) podemos decir que el 21% de la variación en los valores para Hemoglobina glucosilada, pueden explicarse si se conocen los valores de glucosa sérica.

Como puede observarse en los resultados obtenidos en la tabla 2, más del 50% de los pacientes analizados presentaron glucosa sérica por encima de los valores normales, es decir, pacientes que al analizar sus resultados son considerados dentro de un mal control diabético.

Sin embargo al analizar su Hb. glucosilada podemos darnos cuenta que el 75.9% de los pacientes presentaron un buen control, 11 pacientes (20.37%) se consideraron no controlados y 3.7% (2 pacientes) están dentro de la llamada zona de peligro.

Haciendo un comparativo de los resultados de glucosa serica y glucosa urinaria, lo que se espera observar es que el resultado se encuentre en relación al obtenido en la glucosa sérica, es decir glucosa sérica elevada, glucosa urinaria elevada. Por lo general la glucosa urinaria no es tomada en cuenta debido a que el resultado puede estar influenciado por varios factores, entre ellos: el estado de salud general de l paciente, errores en la toma y manejo de la muestra y el método de detección de la glucosa. Encontrando entonces en la mayoría de los casos resultados variados.

Como podemos ver en la tabla No. 3, de un total de 54 pacientes analizados, el 53.70% presentaron glucosa sérica elevada, la cual al relacionar con el resultado de la Hemoglobina glucosilada se espera que de igual forma el valor de esta se encuentre elevado, o en el intervalo indicativo de pacientes no controlados (Hb. glucosilada 9-12%), obteniendo así que solo 10 pacientes de este grupo tienen valores elevados.

De aquí cabe mencionar, un caso en particular (paciente No. 32) en el que tanto su resultado de glucosa sérica como de glucosa en orina se encuentran normales, pero al revisar su Hb glucosilada (18.1%) esta nos indica que al menos durante los tres meses anteriores a su toma de muestra presento un mal control de su diabetes.

Este resultado nos hace considerar lo engañoso que puede llegar a ser la determinación de glucosa sérica la cual nos indica solo como se encuentra el paciente en el momento o en el día en el que se tomó la muestra, en comparación de la hemoglobina glucosilada, cuyo fundamento esta en las vida media del eritrocito.

En otro caso, también se encontraron pacientes (No. 31) cuya determinación de glucosa sérica se encuentra dentro del intervalo normal, pero en su orina se detectó la presencia de esta, al realizar la HbA1c esta se encuentra elevada (10.2%) considerando a la paciente como no controlada.

13. CONCLUSIONES

La determinación de glucosa sérica, posee poca sensibilidad como diagnóstico a largo plazo.

La prueba de glucosa en orina no puede ser tomada en cuenta como parámetro para el control diabético, debido a que existen factores que pueden alterar los resultados.

La determinación de hemoglobina glucosilada arrojó valores que consideran a más del 70% de los pacientes con un buen control diabético, recordando que esta prueba determina niveles glucémicos correspondientes a períodos más amplios (90 días precedentes a la prueba), en comparación con la glucosa sérica por lo tanto la prueba de hemoglobina glucosilada es una mejor alternativa para el diagnóstico de diabetes mellitus.

La glucosa serica nos determina sólo el momento metabólico en el que se encuentra el paciente, mientras que la hemoglobina glucosilada nos determina un promedio de tres meses anteriores a la prueba.

Una inadecuada toma y recolección de muestras influye de manera determinante en los resultados obtenidos.

14.- RECOMENDACIONES

Se debe considerar a la determinación de hemoglobina glucosilada como el mejor método alternativo para el diagnóstico de diabetes mellitus, a su vez se debe también concientizar al paciente para que este evite realizar medidas extremas (ayunos prolongados, ingesta inadecuada de medicamentos, entre otros) para tratar de lograr un control momentáneo de su enfermedad; así como recordar al medico que se deben llevar a cabo actualizaciones con respecto a los estudios solicitados para el diagnóstico y control de la diabetes, los cuales serán de gran ayuda para lograr un mejor control de la enfermedad.

15.- GLOSARIO

AMINOACIDO: Importante clase de compuestos orgánicos que contienen un grupo amino y un grupo carboxilo. Veinte de estos compuestos son los constituyentes de las proteínas.

ANTICOAGULANTE: Nombre de los fármacos que impiden o retardan la coagulación sanguínea inhibiendo la formación de fibrina. Pueden ser de tres clases a) los anticoagulantes que actúan in vitro; son esencialmente sustancias descalcificantes, que eliminan el ion calcio de la sangre; b) los anticoagulantes que actúan in vivo, cuando se administran al organismo y son los denominados anticoagulantes sintéticos u orales; c) los anticoagulantes que actúan in vivo e in vitro, a saber, la heparina.

ANTISEPTICO: Agentes físicos o químicos que evitan la putrefacción, infección o cambios similares, de los alimentos y tejidos vivos, destruyendo los microorganismos o impidiendo su desarrollo.

Candida albicans: Hongo clasificado dentro de las micosis oportunistas, que en general no produce enfermedades, pero pueden desarrollarla aquellos huéspedes que presentan alteración de los mecanismos de defensa. La candida es miembro de la flora normal de las membranas de las mucosas en los aparatos respiratorios, gastrointestinales y genital femenino

CATECOLAMINAS: Es llamada así a las hormonas de la médula (adrenalina y noradrelina). La noradrenalina es sintetizada en la médula de la glándula suprarrenal. Es el neurotransmisor de la mayoría de las fibras nerviosas simpáticas postganglionares y el precursor de la adrenalina, con potente efecto vasopresor y estimulador de la contractilidad cardíaca.

CISTITIS: Inflamación de la vejiga urinaria, normalmente debida a una infección bacteriana originada en la uretra, vagina o, en casos más complicados, en los riñones. La cistitis también puede deberse a la irritación causada por los depósitos cristalinos de la orina, o a cualquier condición o anormalidad urológica que obstaculice el funcionamiento normal de la vejiga. Entre los síntomas se pueden citar la micción dolorosa o dificultosa, la necesidad urgente de orinar y, en algunos casos, orina turbia o con sangre.

DALTONS: Unidad de masa molecular. Un dalton = 1.67×10^{-24} gr y corresponde al peso atómico del átomo de hidrógeno.

DIFUSION SIMPLE: Transporte pasivo de solutos a través de la membrana del dializador. La cantidad de un soluto que atraviesa una membrana por difusión depende de tres factores: 1) el coeficiente de transferencia de masa del dializador, que dependerá del grosor de la película sanguínea en contacto con la membrana del grosor de la membrana de diálisis y del flujo del dializador; 2) la superficie eficaz del dializador, y 3) el gradiente de concentración medio para un soluto a ambos lados de la membrana.

ELECTROLITOS: Las disoluciones de la mayoría de los ácidos inorgánicos, bases y sales son conductoras de la electricidad y a estas se les denomina electrolitos. Están representados por los cationes Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^+ que suman en su totalidad los mismos miliequivalentes que los aniones Cl bicarbonato sulfatos-ácidos orgánicos

ESTRIOL: Tipo de estrógeno que pueden detectarse en la orina humana. Todos ellos son sintetizados en el cuerpo y los más conocidos son el estradiol, el estriol y la estrona.

ESTROGENOS: Hormona esteroidea implicada en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios de la mujer, en la regulación del ciclo menstrual y de la ovulación, y en el embarazo.

FIBRINOGENO: Proteína plasmática de la sangre responsable de la coagulación. Bajo la acción catalítica de la trombina, el fibrinógeno se transforma en la proteína insoluble fibrina, que es el elemento estructural de los coágulos sanguíneos o trombos.

FORMOL: Solución transparente de formaldehído en agua al 37%, que se utiliza como fijador de tejidos, para su posterior observación. También actúa como desinfectante y conservante.

GLUCOLISIS: Ruta bioquímica principal para la descomposición de la glucosa en sus componentes más simples dentro de las células del organismo

HIPERLIPIDEMIA: Aumento de la concentración plasmática de lipoproteínas circulantes, lo que se traduce, en los análisis de laboratorio, en un aumento del colesterol circulante, de los triglicéridos o de ambos.

HOMEOSTASIS: Proceso por el cual un organismo mantiene las condiciones internas constantes necesarias para la vida. Capacidad del cuerpo para regular la composición y volumen de la sangre, y por lo tanto, de todos los fluidos que bañan las células del organismo, el "líquido extracelular". El término homeostasis deriva de la palabra griega homeo que significa 'igual', y stasis que significa 'posición'.

Glosario de términos

HORMONA: Sustancia que poseen los animales y los vegetales que regula procesos corporales tales como el crecimiento, el metabolismo, la reproducción y el funcionamiento de distintos órganos.

NEFRITIS: Denominación común para los procesos inflamatorios del riñón. Existen varias formas de nefritis, las más habituales son la glomerulonefritis y, en menor medida, la pielonefritis y la nefritis tubulointersticial.

PORFIRINAS: Son pigmentos que forman la base de elementos más complejos, como la clorofila de las plantas y en los animales la porción básica de pigmentos hemáticos y titulares. Hacen parte de la hemoglobina, de las catalasas y los citocromos.

PORFOBILINOGENO: Para formar el núcleo básico de la hemoglobina, que se denomina HEM, intervienen las porfirinas, que sufren en la médula ósea, alteraciones enzimáticas para originar el porfobilinógeno. Es un compuesto incoloro que por acción de la luz solar, forma porfirinas, que son de color rojo oscuro, por lo que orinas de pacientes padecen Porfirio, toman dicho color cuando se colocan bajo la luz solar.

Proteus: Bacteria Gram negativa de la familia de las enterobacterias, que reciben este nombre porque suelen encontrarse en el intestino de los mamíferos.

QUILOMICRONES: Lipoproteínas formadas fundamentalmente por triglicéridos

UREASA: La enzima que controla la descomposición de la urea.

XILOSA URINARIA: Pentosa que forma parte de los polisacáridos de las plantas. En el hombre la xilosa prácticamente no es metabolizada y la mayoría se elimina por la orina, lo que se utiliza en el test de absorción de la xilosa para estudiar la absorción de los carbohidratos.

16. ANEXO.

Generalidades del sistema Dimension AR.

El analizador de Química Dimension AR es un sistema de Química Clínica discreto de acceso aleatorio, el cual usa los cartuchos de reactivos múltiples Flex de Dade Behring, cubeta de reacción descartables y Tecnología de Ión Selectivo (ISE) para proporcionar resultados rápidos, exactos y precisos.

El sistema de Química Clínica Dimensión AR es un modelo de piso, controlado por microprocesadores que integra en un instrumento un sistema completo de química clínica que mide una variedad de analitos, incluyendo actividad de enzimas en fluidos corporales.

Características.

- Acceso aleatorio de pruebas.
- Realiza hasta 300 pruebas de química fotométrica y 200 pruebas de electrolitos por hora en muestras de suero, plasma, orina o líquido cefalorraquídeo.
- Mantiene hasta 44 cartuchos de reactivos en un sistema de refrigeración no fluorocarbonado.
- Prepara automáticamente los reactivos.
- Tiene teclas de 7 perfiles programables por el usuario.
- Realiza dilución automática para muestras sobre el rango.
- Realiza una dilución automática en muestras de orina.
- Inventario de reactivos controlados por el sistema.



FIG. 14. EQUIPO DIMENSION AR.

Anexo

Calibración.

La calibración esta basada en el uso de estándares conocidos (también llamados calibradores) los cuales son medidos en el instrumento. El sistema es luego ajustado usando los resultados de las pruebas de los calibradores. Por ejemplo, si un calibrador con un valor esperado de 100 mg/dl esta siendo analizado, entonces un valor de 100 mg/dl debería ser impreso por el instrumento, cuando el valor impreso no es exacto, el analizador necesita ser ajustado para arrojar aquellos valores exactos.

Se calibra cada 15 o 90 días, dependiendo del método si se trata del mismo lote de Reactivo.

Cuando un nuevo lote de reactivo es puesto en uso.

Cuando un nuevo método es agregado al instrumento.

Durante resolución de problemas de resultados de CC si estos están fuera de los límites aceptables.

Calibración de Métodos Lineales.

La reacción química de ciertos métodos en el sistema tiene una respuesta lineal durante el procesamiento de la muestra. Esto significa que la concentración de la sustancia (producto de la reacción) formada durante la reacción es linealmente proporcional a la cantidad de luz que la sustancia. (Producto de la reacción) absorbe. El instrumento determina la concentración o actividad del analito derivado de la cantidad de luz absorbida.

Cuando se calibra un método lineal, la curva en la gráfica de los valores del instrumento versus los esperados de los calibradores deberán cumplir con estas indicaciones.

- Precisión
- Pendiente 0.97-1.03 (1.00 +/- 0.03)
- Intercepto = 0 (o muy cercano a 0 para ser clínicamente insignificante)
- Coeficiente de correlación (r) = 0.99 – 1.000
- Control de calidad.

Estas condiciones aseguran la exactitud de los resultados. Si los métodos no están calibrados de acuerdo a estos criterios, los resultados de pacientes pueden ser no confiables.

Calibración de métodos no lineales.

La reacción química de ciertos métodos puede tener una respuesta no lineal. El instrumento debe primero “linearizar” la curva de calibración (usando una función logarítmica) y luego calcula la pendiente y el intercepto para esa curva.

La calibración en el sistema para los métodos no lineales esta basada en la comparación de los resultados de las pruebas del calibrador obtenidas del instrumento con los valores esperados para ese calibrador.

La siguiente gráfica muestra una curva de los valores (en unidades mA) obtenidas del instrumento (eje y) versus los valores esperados del calibrador (eje x) para un método no lineal. En la grafica (fig. 12) se muestra antes de que el instrumento “linearize” la curva de calibración.

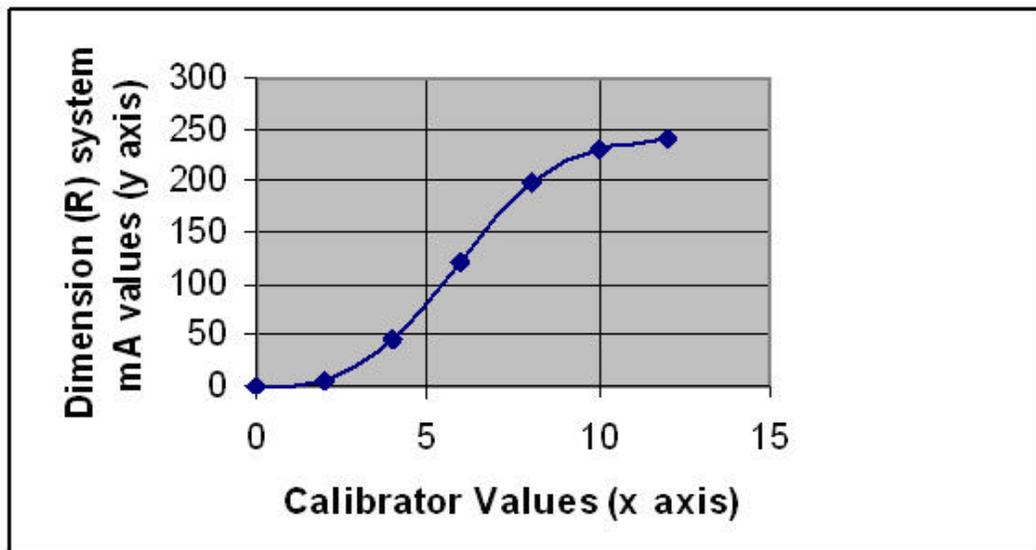


FIG. 15. *Curva de calibración para un método no lineal.*

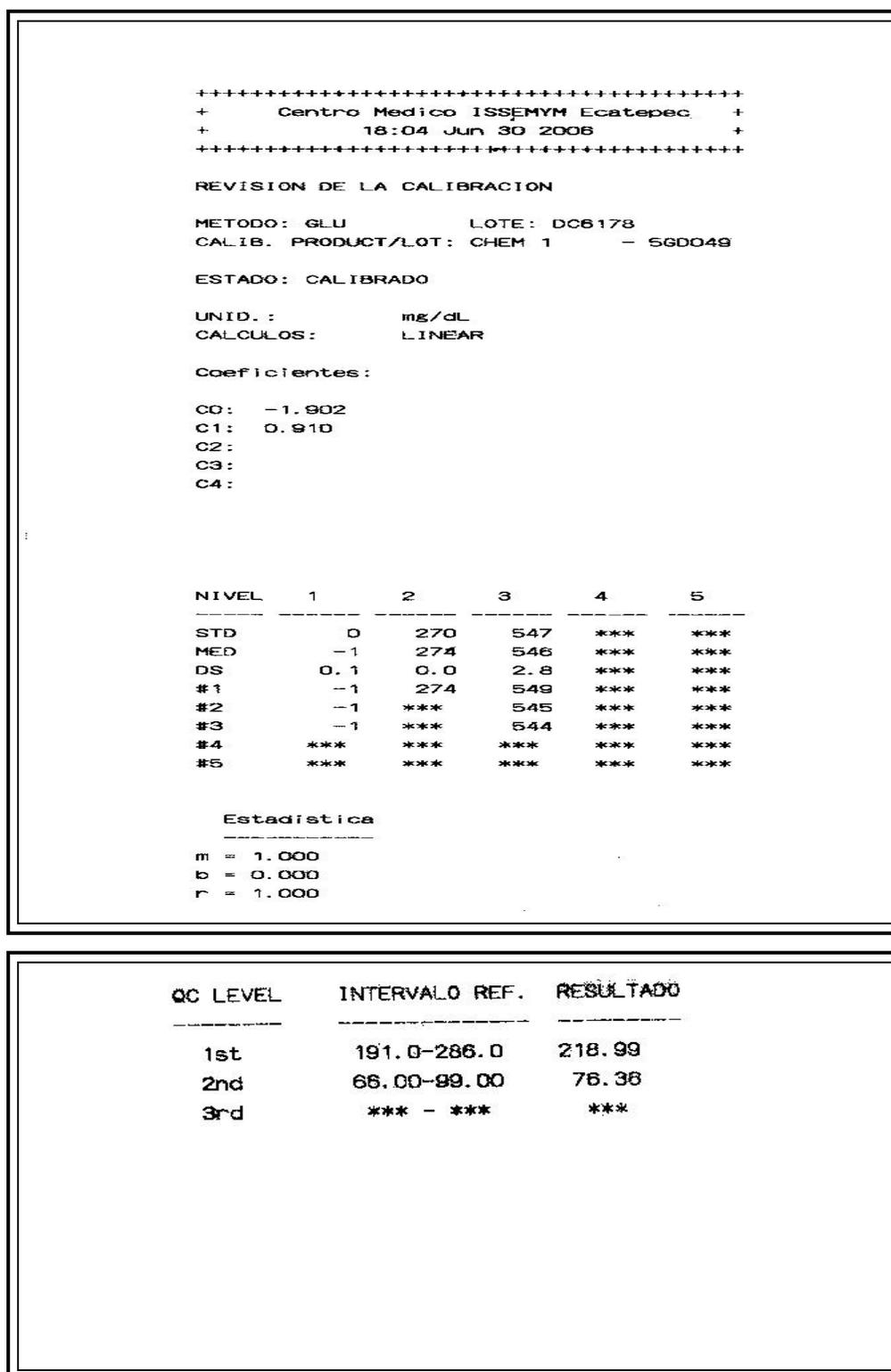


FIG. 16. Resultados de la calibración de glucosa sérica (método lineal)

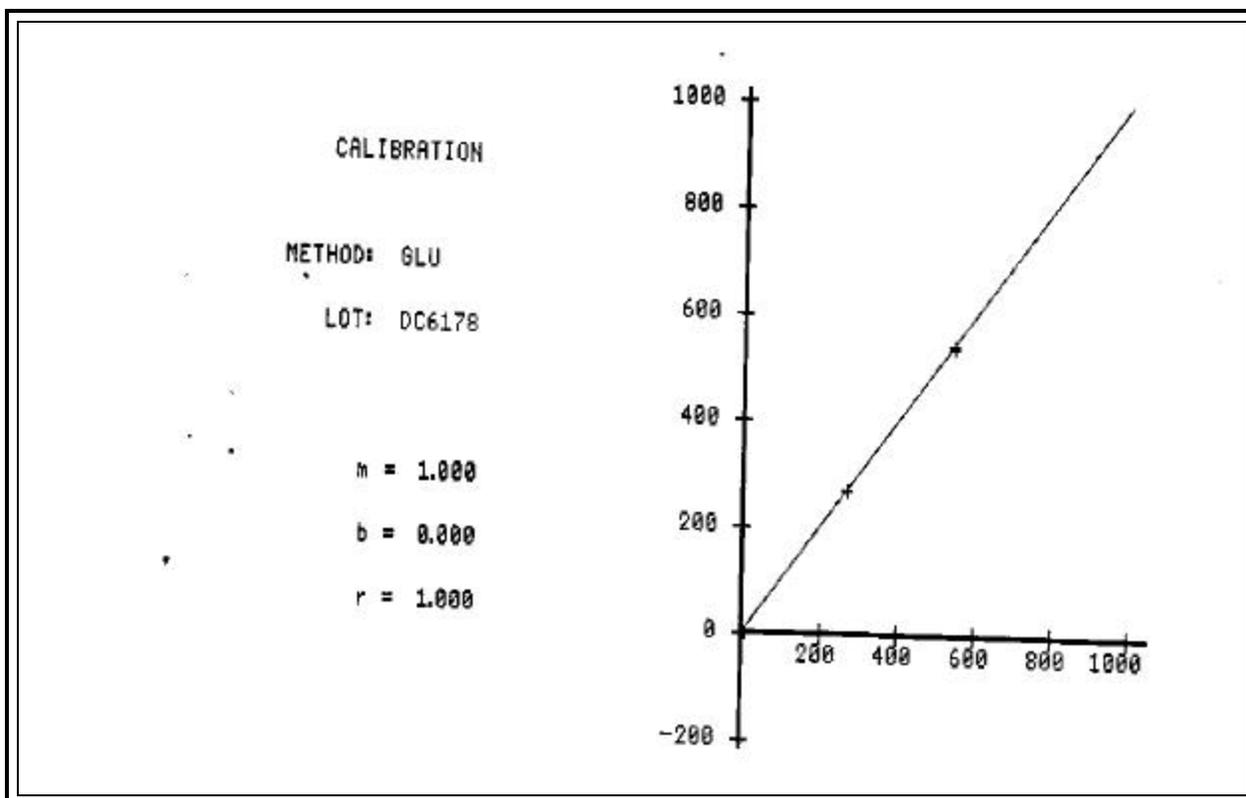


FIG. 17. *Gráfico de los resultados de la calibración de glucosa sérica.*

```

+++++
+      Centro Medico ISSEMYM Ecatepec      +
+      18:07 Jun 30 2006                  +
+++++

REVISION DE LA CALIBRACION

METODO: HA1C          LOTE: EA6255
CALIB. PRODUCT/LOT: HA1C CAL - EA6255

ESTADO: CALIBRADO

UNID. :              g/dL
CALCULOS:            LOGIT

Coeficientes:

C0: 269.631
C1: -302.268
C2: -1.008
C3: 2.063
C4: 0.500
E: 6.527          ESD: 0.0772

Scalars:  A: 0.00000 B: 0.00240
          C: 0.63710 D: 2.74240

NIVEL   1       2       3       4       5
-----
STD      0.00   0.50   0.92   1.66   3.01
MED.     0.00   0.48   0.98   1.63   3.02
DS       0.031  0.027  0.032  0.044  0.007
#1      -0.02   0.50   0.98   1.66   3.01
#2       0.02   0.46   0.94   1.60   3.02
#3       ***   ***   ***   ***   ***
#4       ***   ***   ***   ***   ***
#5       ***   ***   ***   ***   ***

Estadística
-----
m = 1.001
b = -0.001
r = 0.999

```

HB REPS	INTERVALO REF.	RESULTADO
L3-1	*** - ***	14.61
L3-2	*** - ***	14.44
L4-1	*** - ***	14.35
L4-2	*** - ***	14.20
HB BV L3:	14.40	HB BV L4: 14.40
g/dL SD3:	0.115	g/dL SD4: 0.105

FIG. 18. Resultados de la calibración de la hemoglobina glucosilada (método no lineal)

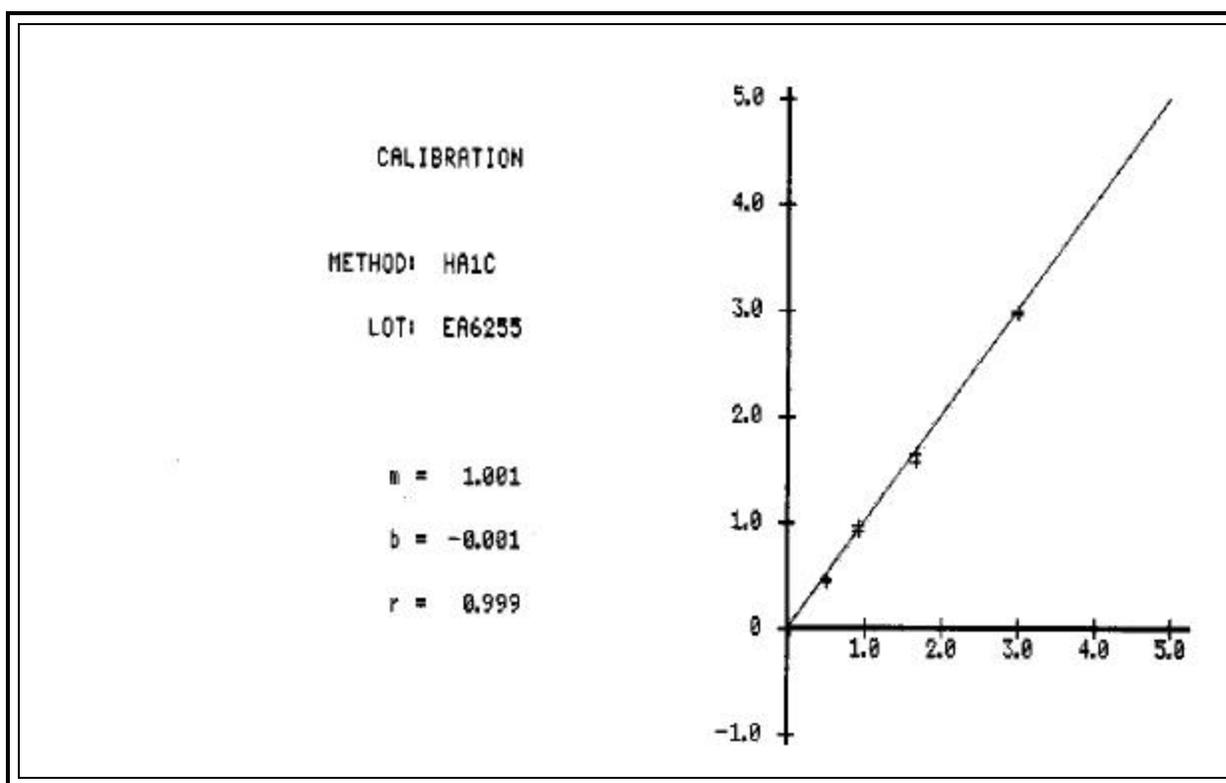


FIG. 19. *Gráfico de la calibración de Hemoglobina glucosilada.*

Generalidades de COMBUR¹⁰TEST M

Las tiras de ensayo están concebidas para la determinación semicuantitativa en orina de la densidad específica, del pH, los leucocitos, nitritos, las proteínas, la glucosa, los cuerpos cetónicos, el urobilinogeno, la bilirrubina y la sangre.

Características.

Tiras de ensayo de orina para la determinación en orina de ciertas sustancias constitutivas de importancia significativa en trastornos renales, urinarios, hepáticos y metabólicos. Los reactivos suministrados con las tiras de ensayo del Combur¹⁰Test M son idénticos a los probados papeles de ensayo de la línea de productos de lectura visual Combur-Test.

17. BIBLIOGRAFÍA

1. - STRASINGER, S.K. Líquidos Corporales y Análisis de Orina. Manual Moderno, México 1991
2. - WILLIAM F. Ganong. MD. “Fisiología médica”. Ed. El manual moderno. 19ª edición, México 2004. 757 a 787 y 363 a 387.
- 3.- GUYTON Arthur Dr. Fisiología humana. Ed. Interamericana. 6ª edición, México 1987. 600, 601.
- 4.- ISLAS A.S; Lifshitz, G.A. “Diabetes Mellitus”. Ed Interamericana. Mc. Graw Hill, 1993, 292-295.
5. - SPERLING, M.A. “Diabetes Mellitus, Clinical Pediatric Endocrinology”. Enkaplans, S.A (ED); Saunders Philadelphia, 1990, 127-164.
6. - ARGERI Nelson Jorge, Lopardo Horacio Ángel. “Análisis de Orina. Fundamentos y Practica”. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España 1993.
7. - NATIONAL Diabetes Data Group. “Clasification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance”. Diabetes, 1979. Dec (28), 1039-1057.
8. - ANDREOLI Thomas E. MD., Carpenter Charles CJ. MD., Benett J. Claude MD. “Compendio de Medicina Interna”. Ed. Mc Graw Hill Interamericana. 4ª edición.
9. - BUNN, H. F. “Nonenzymatic glycosylation of protein: Relevante to diabetes”. The American Journal of Medicine, 1981; Feb (70) 325-330.
10. - ALLEN DW; w. A Schroeder and J. Balog. “ Observations on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin: A study of the effects of crystallization and chromatography on the heterogeneity and isoleucine content. The American Journal Chemical Society, 1988 (80)1628-1634.

- 11.** - PAULSEN, EP and M. Koury. "Hemoglobin A1c levels in insulin dependent and independent diabetes mellitus". Diabetes, 1976, 25 (suppl 2), 890-896.
- 12.** - GOLDESTINE, D. E; B. Walter. S. S; Rawlings. R. L. Hess; J. D. England; S. B. Peth and J. E. Hewett. "Hemoglobin A1c levels in children and adolescents with diabetes mellitus". Diabetes care, 1980, Jul 4(3) 503-515.
- 13.** - BACKGROUND on glycated hemoglobin, Abbott Laboratorios Abbott Park, Illinois.
- 14.**- REVILLA, Monsalve M^a Cristina. "Pruebas de laboratorio útiles para el control de la diabetes mellitus. Hemoglobina glucosilada". Rev. Med. Inst. Méx. Seguro Social, 1995, (33) ,501-504.
- 15.** - Mc. FARLAND, K.F. "Glycosylated hemoglobin, wath is its value?" Arch Intern. Med., 1981, May, (141) ,712.
- 16.**- NAVARRETE Felipe Edmundo. "Diferentes Metodologías para la Detección Clínica de la Hb. Glicosilada". Tesis de licenciatura, México, 1997, UNAM, FESC.
- 17.** - DADE BEHRING. Manual de usuario. Equipo Dimension AR.
- 18.**- TALASKA Fischbach Frances. "Manual de Pruebas Diagnosticas" Ed. Mc. Graw Hill. Interamericana. 5^a edición. México 1997.
- 19.**- HENRY John Bernard. "Diagnostico y tratamiento clínico por el laboratorio". Ed. Científicas y técnicas SALVAT. 9^a edición, México, 1993. 417 a 420.
- 20.**- HENRY Richard J. MD. "Química Clínica". Tomo I. Ed. Jim. 2^a edición. Barcelona, España 1980.

- 21.-** BOQUET Jiménez E. y col. “Mejoría Continua de la Calidad. Guía para los laboratorios clínicos de América Latina”. Ed. Médica Panamericana. México 1998.
- 22. -** SONNEWIRTH Alex C., Jarett Leonard. “Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico”. Gradwohl. Ed. Medica Panamericana 8ª edición, Argentina, 1983.
- 23.-** BUSTOS Saldaña Rafael; Bustos Mora Alejandro. “Control de la glucemia en diabeticos tipo II. Utilidad de mediciones en ayuno y pospandriales”. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Social. 2005; 43(5); 393-399.
- 24-** CANAHUATI R; González S. R; Terres S. A. M. “Pruebas de tolerancia a la glucosa oral (PTGO). Estrategias para optimizar su aplicación diagnostica”. Rev. Méx. Patol. Clin, 1993; 40(3); 102-107.
- 25.-** JACINTO Robles Teodora. “Comportamiento de la Hb. Glicosilada, Hb. Normal y glucosa en pacientes con diabetes tipo I respecto a individuos normales”. Tesis de licenciatura, México, 1996, UNAM, FESC, 22-27.
- 26.-** TERRES, Speziale Arturo. “Confiabilidad y aplicabilidad de los nuevos criterios internacionales para el diagnostico de diabetes mellitus”. Rev. Méx. Patol. Clin; 2002; 49(4); 212-220.
- 27.-** BALCELLS Gorina Alfonso. “La clínica y el laboratorio”. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Ed. Masson. 19ª edición. España 2004.