|  |
| --- |
| 1. **DATOS GENERALES**
 |
| **GUÍA DE PRACTICA Nº** | **3** |
| **PERIODO ACADÉMICO** | 2025 – 1S |
| **HORARIO DE LA PRÁCTICA:** | **SEGUNDO A** lunes 10H00 a 13H00 |
| **FECHA DE REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA:** | **28 de abril del 2025**GRUPOS 4-5-6 presencialGRUPOS 1-2-3 aula virtual **05 de mayo del 2025**GRUPOS 1-2-3 presencialGRUPOS 4-5-6 aula virtual  |
| **CRONOGRAMA DE INFORME DE LA PRÁCTICA Y OTRAS ACTIVIDADES:** |

|  |  |
| --- | --- |
| **ACTIVIDADES** | **CRONOGRAMA** |
| 2.11. PRÁCTICA: El Metabolismo de Carbohidratos por el Laboratorio PARTE I2.11.1. Cuantificación de Glucosa Basal, Glucosa Posprandial, Hemoglobina Glicosilada, Fructosamina. Aplicación método, fundamento, cálculos e interpretación de resultados2.12. PRÁCTICA: El Metabolismo de Carbohidratos por el Laboratorio PARTE II2.12.1. Cuantificación de Glucosa Basal, Glucosa Posprandial, Hemoglobina Glicosilada. Fructosamina. Aplicación método, fundamento, cálculos e interpretación de resultados | Semanas de trabajo |
| Lectura científica y resumen Grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 | Entrega hasta 12 de mayo del 2025Grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 |
| Informe de práctica No. 3 | Entrega hasta 12 de mayo del 2025Grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 |
| PARTICIPACIÓN EN EL FORO ACADÉMICO: Modalidad Virtual - Trabajo autónomo, jornada asincrónica | Semanas de trabajo |
| CONSTRUCCIÓN WIKI ACADÉMICA: Modalidad Virtual - Trabajo Autónomo, jornada asincrónica | Opcional Semanas de trabajo |

 |
| **NOMBRE DE LA DOCENTE** | Dra. María Angélica Barba Maggi, Mgs |
| **CURSO:****PARALELO:****GRUPO:** **APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS:****FIRMAS DE LOS ESTUDIANTES PARTICIPANTES** |  **SEGUNDO A**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No.** | **APELLIDOS Y NOMBRES** | **GRUPO** |
| 1 | ANCHUNDIA LOPEZ ANGIE MARIA | 1 |
| 2 | ANDRADE CASTILLO ANTHONY JOSSUE | 1 |
| 3 | AVILA SALAZAR ALAN LEONEL | 1 |
| 4 | BALCAZAR REAL MARIA FERNANDA | 1 |
| 5 | CALO MACAS GLORIA JANETH | 1 |
| 6 | CEVALLOS IGLESIAS ALISON ANAHI | 1 |
| 7 | CRUZ HEREDIA LESLIE ELIZABETH | 2 |
| 8 | CRUZ GARCIA LEONELA SHAKIRA | 2 |
| 9 | DE LA ROSA MURILLO ANDREA NICOLE | 2 |
| 10 | FLORES GAIBOR LINDA ABIGAIL | 2 |
| 11 | GARZON URGILES JENIFER PAMELA | 2 |
| 12 | HIDALGO TUMBACO ZURICK MARAT | 2 |
| 13 | HINOJOSA CEDEÑO DAMARIS SARAI | 2 |
| 14 | LEON OCAMPO MASHERLY PAULETTE | 3 |
| 15 | LOPEZ VALLADARES MATIAS NICOLAS | 3 |
| 16 | MALAVE DE LA ROSA CRISTHIAN GEOVANNY | 3 |
| 17 | MEDINA CALDERON KATHYA JANETH | 3 |
| 18 | MISE CARATE FRANKLIN ALDAHIR | 3 |
| 19 | MORAN IZA WILFRIDO JACINTO | 3 |
| 20 | ORDOÑEZ PEÑA SCARLET GABRIELA | 4 |
| 21 | PARRAGA ARTEAGA BRYAN STEVEN | 4 |
| 22 | PILATASIG CHICAIZA DERLIS AARON | 4 |
| 23 | PILATUÑA IGUAGO JENIFFER PAMELA | 4 |
| 24 | PIÑAS CRIOLLO CATHERINE LEONELA | 4 |
| 25 | QUINTERO INTRIAGO JOFFRE FARITH | 4 |
| 26 | ROSALES RUIZ AMY FERNANDA | 4 |
| 27 | SALAZAR GUARCO ANTHONY ESTALIN | 5 |
| 28 | SALVATIERRA SANTILLAN HAYDEE BEATRIZ | 5 |
| 29 | SAMPEDRO LEON KERLLY VIVIANA | 5 |
| 30 | SANAGUANO SAMANIEGO ANAHI FERNANDA | 5 |
| 31 | SARANGO SAMANIEGO JOSTHYN JOSEPH | 5 |
| 32 | SOSA ALLAN SARAI YALILE | 5 |
| 33 | URQUIZO LOPEZ SAMANTHA MICAELA | 5 |
| 34 | VASCONEZ CABEZAS NAYESSKA SLAYNE | 6 |
| 35 | VELASQUEZ MEZA NOHELIA ESTEFANIA | 6 |
| 36 | VILLALVA COLOMA JENNIFER ALISON | 6 |
| 37 | VILLAMAR VELEZ KARLA THAIZ | 6 |
| 38 | YASELGA NARVAEZ JOSHUA SEBASTIAN | 6 |
| 39 | ZAMBRANO ZAMBRANO ELIAN ALEJANDRO | 6 |

 |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | LAB E201- BLOQUE E Facultad de Ciencia de la SaludSoporte material en el Aula virtual Bioquímica II<https://moodle.unach.edu.ec/course/view.php?id=47704> |
| **UNIDAD SÍLABO** | No. 2 Metabolismo de Carbohidratos y Lípidos |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE** | Describe los procesos metabólicos de carbohidratos y lípidos, con el fin de establecer la importancia biomédica en la fisiología humana y analizar las enfermedades. |
| 1. **DESARROLLO**
 |
| 1. **TÍTULO DE LA PRÁCTICA**
 | Metabolismo de Carbohidratos  |
| 1. **OBJETIVO**
 |
| * 1. **OBJETIVO GENERAL**
 | Describir y Aplicar Métodos Cuantitativos para la interpretación del metabolismo de Carbohidratos y establecer su importancia biomédica |
| * 1. **OBJETIVOS EPECÍFICOS:**
 | * + 1. Aplicar el método de cuantificación de glucosa (glicemia basal) mediante la utilización del Glucosómetro (sistema Accucheck Active) en sangre capilar, interpretar los resultados obtenidos frente a valores normales y establecer la importancia biomédica.
		2. Aplicar el método Glucosa Oxidasa / Peroxidasa en una muestra de plasma para cuantificar la glicemia basal. Interpretar los resultados obtenidos frente a valores normales y establecer la importancia biomédica.
		3. Aplicar el método de cuantificación de glucosa posprandial mediante la utilización del Glucosómetro (sistema Accucheck Active) en sangre capilar, interpretar los resultados obtenidos frente a valores normales y establecer la importancia biomédica.
		4. Aplicar el Método con resina de Intercambio Iónico de Hemoblogina A1c en sangre, para Cuantificar Hemoglobina Glicosilada, Interpretar los resultados obtenidos frente a valores normales y establecer la importancia biomédica.
		5. Aplicar el método de sal de tetrazolio (NBT) para cuantificar fructosamina en plasma, interpretar los resultados obtenidos frente a valores normales y establecer la importancia biomédica.
 |
| 1. **MATERIALES – REACTIVOS – EQUIPOS:**

**MATERIALES Y EQUIPOS*** 2 gradillas
* 1 pipeta semiautomática de 100 -1000 ul
* 1 pipeta semiautomática de 10 -100 ul
* 1 vaso de precipitación de 100 ml
* 6 tubos de ensayo pequeños (trae el grupo)
* 1 cronómetro
* Centrífuga
* Vórtex
* Espectrofotómetro
* Baño termostatizado a 37 °C
* Parafilm

**REACTIVOS** * Kit de reactivos para cuantificar glucosa
* Kit de reactivos para cuantificar hemoglobina glicosilada
* Kit de reactivos para cuantificar fructosamina

**OTROS MATERIALES QUE EL EQUIPO DE TRABAJO DEBE TRAER:****GRUPALES*** 1 franela de 40 cm (o toalla, para aseo)
* 1 frasco pequeño de cloro
* 1 frasco estéril para torundas de algodón
* Torundas de algodón
* 1 frasco de alcohol
* 10 gasas estériles
* 1 frasco pequeño de jabón líquido
* 1 demográfico (o marcador de material de vidrio)
* 1 cepillo para lavar tubos de ensayo
* 1 par de guantes de uso doméstico
* 1 frasco con detergente (para lavado de materiales)
* 20 puntas amarillas
* 1 lavacara pequeña
* 1 frasco de gel antibacterial (120 ml aprox.)

Para esta práctica se necesita:* 1 tubo al vacío tapa lila con EDTA
* 1 aguja vacuntainer tapa verde
* 1 vendita o curita
* 1 torniquete
* 1 cápsula para la aguja vacuntainer

Tiras para cuantificación de glucosa y lancetas para punción capilar. Se sugiere comprar la caja completa de tiras se realizará una prueba en condiciones basales y una prueba en condiciones posprandiales a cada estudiante (por lo que se deberá comprar las cajas completas) no pueden las tiras estar expuestas al ambiente por la degradación que ocurre, deben estar en el frasco hermético de origen. Las pruebas se realizan en todos los estudiantes del curso. **2 tiras por cada estudiante****2 lancetas por cada estudiante**Accu-Chek Instant Blood Glucose Glucometer (with Bluetooth) with Vial of 10  Strips, 10 Lancets and a Lancing Device FREE for Accurate Blood Sugar  Testing : Amazon.in: Health & Personal CareTiras Accu-Chek® Instant | Accu-Chek®***PREPARACIÓN ESTUDIANTES:*** Todos los estudiantes de cada grupo de trabajo deben estar en condiciones basales para la cuantificación de glicemia basal (al menos 8 horas de ayuno). Cada estudiante debe llevar su desayuno (lunch) después de dos horas se realiza una medida de glucosa posprandial).Para la cuantificación de glucosa por el método GOD/PAP solo se aplicará en un estudiante de cada equipo (sangre recogida en tubo con EDTA – tapa lila, para liberar plasma), se recomienda seleccionar al estudiante que pudiese tener antecedente de diabetes en la familia. |
| 1. Aula virtual, recursos multimedia imágenes, videos, texto en guía de práctica, cuestionario, registro de datos de práctica, formato de informe, materiales, reactivos, equipos de laboratorio, Microsoft Teams.
 |
| 1. **FUNDAMENTO TEÓRICO:**

Análisis de las técnicas espectrofotométricas para la cuantificación de glucosa en glicemia basal, glucosa posprandial, hemoglobina glicosilada y fructosamina.Otras fuentes bibliográficas trabajadas en teoría.Técnicas Espectrofotométricas y Métodos Colorimétricos para Cuantificación de Glucosa y Hemoglobina GlicosiladaRevisar las técnicas constantes para la práctica en el aula virtual.**INTRODUCCIÓN**La patología más comúnmente relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono es la Diabetes Mellitus, síndrome **caracterizado por una secreción anormal de insulina que se refleja en una tendencia a la** hiperglicemia (asociada con glucosuria) y secundariamente en una variedad de manifestaciones metabólicas y vasculares. Algunos diabéticos se agravan rápidamente sufriendo alteraciones tales como: cetoacidosis y alteraciones vasculares, pudiendo llegar al coma diabético, mientras que otros padecen una intolerancia a la glucosa no progresiva con escasos síntomas del síndrome.El diagnóstico precoz y el control de los pacientes diabéticos, tienen por objeto evitar la cetoacidosis y las complicaciones de los síntomas resultantes de la hiperglicemia, mediante el tratamiento adecuado.Por otra parte, el exceso de insulina en sangre (por exceso de dosis o por sobreproducción) produce una hipoglucemia (que en casos extremos puede llegar al shock), por lo que es de suma importancia el seguimiento de los diabéticos insulinodependientes. Dado que existen múltiples factores causales de hiper o hipoglucemia, debe considerarse en cada caso **la condición fisiológica y/o patología presente en el paciente en cuestión.****ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO**Los hidratos de carbono son ingeridos en la dieta diaria en forma de polisacáridos (almidón), disacáridos (sacarosa y lactosa) y una pequeña proporción de monosacáridos (glucosa y otros).El intestino por acción de diversas enzimas convierte en monosacáridos, los cuales se absorben hacia el torrente circulatorio.El metabolismo de los hidratos de carbono incluye proceso de GLUCOGÉNESIS (síntesis de glucógeno), GLUCÓLISIS (metabolización de glucosa) GLUCOGENÓLISIS (metabolización de glucógeno) y GLUCONEOGÉNESIS (síntesis de glucosa).Los niveles de glucosa en sangre se mantienen entre unos límites muy estrechos y constantes, y se encuentran regulados fundamentalmente por dos hormonas: insulina y glucagón.El organismo intenta mantener una concentración constante de azúcar (glucosa) en sangre. Pueden darse trastornos, por factores ya expuestos, los cuales pueden mantenerse en unas cifras que nunca los 11,0 mmol/l (200 mg/dl) por grande que sea la ingestión de hidratos de carbono, ni descienden por debajo de 2.8 mmol/l (50 mg/dl) en condiciones fisiológicas.La cifra sanguínea de azúcar refleja un equilibrio entre factores que tienden a aumentarla y otros que tienden a reducirla.**HIPERGLUCEMIA****DIABETES MELLITUS: Síndrome que se caracteriza por un aumento en los niveles fisiológicos de la glucosa.*****SÍNTOMAS:**** Aumento de glucosa en ayuna sobre los 7.8 mmol/l (140 mg/dl)
* Aumento exagerado de glucosa a cualquier hora del día sobre las 11.1 mmol (200 mg/dl).
* *GLUCOSURIA* (glucosa en orina), cuando pasa las 10 mmol/l (180 mg/dl) en sangre, la cual constituye el umbral de filtración para la glucosa. Al aumentar la glucosa en la orina aumenta la osmolaridad y éste un incremento en la secreción de agua en orina lo que produce también un aumento de la excreción de orina *POLIURIA.*
* Aumento de glucosa sérica produce aumento de la osmolaridad sanguínea, por ende, un aumento de agua intravascular. Produciéndose una sed intensa que obliga a beber en cantidad *POLIDIPSIA. Puede producirse un trasvase del agua del interior de la célula al exterior, los cual lleva a la HEMODILUCIÓN de los elementos de la sangre.*
* Aunque existe una gran cantidad de glucosa en la sangre, esta no puede ingresar a las células, y producir energía, por la falta de insulina, por lo que la sensación de hambre no se aplace y el enfermo come mucho *POLIFAGIA,* a pesar de ello el enfermo pierde peso, ya que el cuerpo utiliza sus reservas activándose la gluconeogénesis, dando una acidosis metabólica.
* Pueden darse trastornos vasculares que afectan a los vasos pequeños, como los de la retina y el riñón, a capilares de la circulación general, por lo que se produce la ceguera, insuficiencia renal y gangrena en zonas periféricas.

**TIPOS DE DIABETES MELLITUS: Existen tres tipos de Diabetes Mellitus:**1. **DIABETES MELLITUS INSULINO DEPENDIENTE (DMID).** No existe una secreción natural de insulina y se requiere el suministro exógeno de la misma, para mantener los niveles de glucosa. Más frecuente en jóvenes.
2. **DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE (DMNID).** Aparece en personas de edad avanzada. No hay déficit de insulina, pero esta se ve disminuida, o existe alguna disfunción, por eso a pesar de existir insulina en el plasma esta no es suficiente para mantener los niveles de glucosa. Para el tratamiento se disminuye la glucosa plasmática con dieta o con fármacos hipoglucemiantes, antidiabéticos orales que estimulan la secreción de insulina por el páncreas.
3. **DIABETES SECUNDARIA:** Puede ser de origen conocido o sospechado, causada por enfermedades que afectan al páncreas (pancreatitis, pancreatectomía, fibrosis quística, hemocromatosis, o enfermedades de origen endocrinológico). Pude deberse a fármacos (tiácidos, los beta- bloqueantes, difelhidantoína, anticonceptivos orales con estrógenos y los corticoides)

**DISMINUCIÓN DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA: Existe una** glucemia basal inferior a 7.8 mmol/l (140 mg/dl) y a las dos horas de sobrecarga de glucosa se encuentran valores entre los fisiológicos y los de la diabetes. No hay clínica como en los enfermos diabéticos, pero son personas que tienen una mayor probabilidad de padecer diabetes mellitus (pacientes obesos), se recomienda disminuir la ingestión de calorías y corregir el sobrepeso.**DIABETES MELLITUS DEL EMBARAZO:** Se trata de mujeres a las que por primera vez se les diagnóstica diabetes o intolerancia a la glucosa durante el embarazo, normalizándose al terminar éste. Si no se diagnostica se corre el riesgo de morbilidad y mortalidad perinatal, así como el riesgo de padecer diabetes o intolerancia a la glucosa transcurridos 5 ó 10 años del embarazo.***DIABETES MELLITUS FUNDAMENTO:* Se basa en la clínica y en la determinación de glucosa. Según la OMS 1985, se define como diabetes “la presencia de clínica característica de la enfermedad, unida a una determinación de glucosa, en cualquier momento del día, superior a 11.1 mmol/l (200 mg/dl)”.****Si el paciente no presenta síntomas, o la glucemia aislada no es diagnosticada, es necesario hacer un test de sobrecarga oral de glucosa con ingestión de 75 g de glucosa, y de 2 horas de duración antes mencionada la técnica. Si el paciente está asintomático, es necesario dos tests patológicos.** **INTERPRETACIÓN DEL TEST DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA**

|  |  |
| --- | --- |
| ***MUESTRA*** | ***GLUCOSA EN PLASMA VENOSO*** |
|  | ***mmol/l*** | ***mg/dl*** |
| **Diabetes mellitus**1. **Ayunas**
2. **Dos Horas postsobrecarga**
 | **> 7.8****>11.1** | **> 140****> 200** |
| **Intolerancia a la glucosa**1. **Ayunas**
2. **Dos Horas postsobrecarga**
 | **< 7.8****7.8 – 11.1** | **< 140****140 - 200** |

**En niños el criterio es el mismo que en adultos.****En embarazadas, se realiza el Test de O’Sullivan, si el screening es positivo, se hace una sobrecarga con 100 g de glucosa.** **INTERPRETACIÓN DEL TEST DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA EN EMBARAZADAS**

|  |  |
| --- | --- |
| ***MUESTRA*** | ***GLUCOSA EN PLASMA VENOSO*** |
|  | ***mmol/l*** | ***mg/dl*** |
| **Ayunas****1 hora****2 horas****3 horas** | **> 5.8****>10.6****> 9.2****> 8.1** | **>105****>190****>165****>145** |

**La presencia de glucemia elevada en dos de los cuatro puntos de la curva, cualesquiera que sean, puede ser diagnosticada de diabetes mellitus.****5.2. HIPOGLUCEMIA****Los niveles fisiológicos de la glucosa en sangre se sitúan entre 2.2 y 2.5 mmol/L (40- 45 mg/dl).*****SÍNTOMAS:**** Se presenta en ayuna, o se reactiva con el consumo de alimentos o la ingestión de medicamentes.
* Puede darse por ayunos prolongados, ejercicio intenso, por aumento excesivo de la insulina.

**TÉCNICAS DE ANÁLISIS *GLUCOSA.******MÉTODOS BASADOS EN EL PODER REDUCTOR DE LOS HIDRATOS DE CARBONO**** + - 1. ***REDUCCIÓN DEL COBRE:* Se basa en la capacidad de reducción de los iones cúpricos (Cu2+) a iones cuprosos (Cu+), Al calentar lo iones cuprosos forman el óxido cuproso (Cu2O), el cual se detecta por diversos métodos. Así el *MÉTODO DE BENEDICT* que sirve para detectar azúcares reductores totales, es una base de análisis semicuantitativos para azúcares reductores totales en orina. Este método es usado para detectar defectos genéticos del metabolismo de los hidratos de carbono en niños, en cuya orina aparecen azúcares que no son glucosa y, que son detectados de la siguiente forma:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  **Cu2+ + Glucosa**  |  **Calor**  | **Cu2O + CuOH**  |

 **Base rojo amarillo*** + - 1. ***MÉTODO DE LA O-TOLUIDINA:* Se basa en la condensación de azúcares reductores con la orto – toluidina en un medio de ácido acético glacial (CH3COOH), produciéndose un cromógeno. El color formado se mide con un espectrofotómetro a 630 nm. La intensidad de color de la solución directamente proporcional a la cantidad de glucosa existente en la misma. (Riesgo del uso de o- toluidina es potencialmente cancerígena y se emplean otros reactivos corrosivos).**

***MÉTODOS ENZIMÁTICOS**** + - 1. ***MÉTODO DE LA HEXOQUINASA:* Se basa en la fosforilación de la glucosa por la enzima hexocinasa, para formas la glucosa–6-fosfato y en una reacción posterior catalizada por glucosa–6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD), reducción de la coenzima NADP o NADPH. La reacción se mide mediante un espectrofotómetro a 340 nm, el incremento de absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la glucosa en la muestra.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  **Glucosa + ATP**  | **Hexoquinasa** |  **Glucosa – 6 – fosfato + ADP** |
|  |
|  **Glucosa – 6 – fosfato + NADP**  | **Glucosa – 6 – fosfato deshidrogenasa** | **6 – fosfogluconolactona + NADPH + H+** |
|  |

* + - 1. ***MÉTODO DE LA GLUCOSA OXIDASA (GOD/POD):* Se basa en la oxidación de la glucosa por la enzima glucosa oxidasa, reacción en la que se consume oxígenos (O2) y se genera agua oxigenada (H2O2). Así la glucosa se puede cuantificar por varios métodos:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. **Glucosa + O2**
 | **Glucosa oxidasa (GOD)** | **Ácido Glucónico + H2O2** |
|  |
| **H2O2 Consumido en reacciones secundarias****El consumo de oxígeno se mide mediante un electrodo de oxígeno. La cantidad de glucosa en la muestra es directamente proporcional a la cantidad de oxígeno consumido.** |
| 1. **Glucosa + O2**
 | **GOD** | **Ácido Glucónico + H2O2** |
|  |
|  **H2O2 + cromógeno** | **Peroxidasa (POD)** | **Compuesto coloreado + H2O** |

**La cantidad de agua oxigenada se mide por el método de la GLUCOSA OXIDASA / PEROXIDASA. Es una reacción catalizada por la enzima peroxidasa, se oxida un cromógeno de su forma reducida (incolora) a su forma oxidada (coloreada). En el método de Trinder, muy utilizado, el cromógeno que se emplea es la 4 – amino – antipirina. El color formado se mide con un espectrofotómetro a 540 nm, y la cantidad de glucosa en la muestra es directamente proporcional a la intensidad e color.*****PRUEBAS DE CONTROL DE PACIENTES DIABÉTICOS******HEMOGLOBINA GLICADA*** **Se trata de una porción de hemoglobinas que se encuentra unida de forma irreversible a la glucosa mediante enlaces covalentes. Se forma por mecanismos no enzimáticos dentro de los eritrocitos, siendo su cantidad proporcional a los niveles de glucemia, y permanece en ellos hasta que son destruidos.****Cuando se realiza un seguimiento de pacientes diabéticos se emplea la fracción HbA1c de la HbA1. Los niveles de referencia están alrededor de 4.5 a 5.7 por 100 (valores que determinan por medio de la cromatografía líquida de alta resolución HPLC).****La Hemoglobina glicada pueden determinarse por:*** **Cromatografía de Intercambio Iónico.**
* **Cromatografía de afinidad.**
* **Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**
* **Métodos inmunológicos, con medidas turbidimétricas.**
* **Afinidad + captura iónica, con medida por fluorescencia.**

**Algunos de los métodos son automatizables, y la rapidez en la determinación varía de uno a otro.** **El estudio de la hemoglobina glicada es de gran utilidad para el seguimiento de pacientes diabéticos, ya que es un fiel reflejo de sus niveles de glucemia durante los dos meses anteriores a su determinación.****Esta determinación, no es sin embargo de gran utilidad para diagnosticar diabetes pues, aunque posee una elevada especificidad, su sensibilidad no es tan buena, por lo que un resultado normal de hemoglobina glicada no excluye el diagnóstico de diabetes.*****FRUCTOSAMINA*****Se fundamenta de manera similar a la hemoglobina glicada. Las proteínas del plasma se glican por mecanismos no enzimáticos, al igual que la hemoglobina dentro de los hematíes.****La determinación de este azúcar es útil para el control de la evolución de la enfermedad.****La albúmina y las proteínas tienen una vida media de 17 y 30 días, con lo que a medida de su grado de glicación nos dará información de la tasa de glucemia en el paciente durante 2 ó 3 semanas anteriores a la determinación.****Se usa el método colorimétrico. Ya que el grupo amino tienen capacidad reductora del grupo cetoamino de las glicoproteínas para reducir un colorante indicador (nitroazul de tetrazoilo). Se forma un color en la reacción y se lee mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda λ de 530 nm.*****OTRAS DETERMINACIONES***1. ***INSULINA***

**Se utilizan métodos inmunoquímicos así:*** RIA (Radioinmunoensayo)
* ELISA (Enzimoinmunoensayo). - Este método es el más utilizado, se emplea la técnica de “Sandwich" , en el cual el segundo anticuerpo está unido a la enzima peroxidasa y a los productos de reacción, se unen mediante espectrofotometría o por fluorometría.
1. ***PÉPTIDO C***

**Se emplea técnicas RIA, está determinación permite saber si una hiperinsulinemia es de origen exógeno o endógeno, debido a que los preparados comerciales de insulina no llevan este péptido C, el cual constituye el resto de la cadena polipeptídica que se escinde de la proinsulina al convertirse en insulina.**1. ***MICRO ALBUMINURIA***

**En la insuficiencia renal establecida existen aumento de albúmina por encima de 20 mg/dl, que son fácilmente demostrables por las tiras reactivas y los métodos habituales de cuantificación de proteínas en orina. Se denomina Micro albuminuria a la excreción de proteínas en orina en cantidades inferiores a esta cifra. Es importante determinar su presencia en pacientes diabéticos, para controlarla y evitar la aparición de microangiopatías, con alteración dela función renal y desarrollo de una insuficiencia renal que complique la diabetes.****Se utilizan para la determinación métodos inmunoquímicos, realizándose las medidas nefelométricas y turbidimétricas, las cuales son automatizables, poseen especificidad y sensibilidad, permitiendo la cuantificación entre niveles de 2 y 20 mg/dl.**1. ***ANTICUERPOS Y RECEPTORES***

**Se suele determinar:*** Anticuerpos anti-insulina
* Receptores de insulina
* Anticuerpos contra las células productoras de insulina
* Se utilizan técnicas de ELISA e inmunofluorescencia indirecta.

***PRUEBAS FUNCIONALES.*****Cuando no es suficiente la determinación de glucosa, en la determinación de alteraciones de los hidratos de carbono, es necesario recurrir a la prueba de *“SOBRECARGA DE GLUCOSA”,* conocida también como *“TEST DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA ORAL (TTGO)”,* técnica proporcionada el 1985 por el Comité de Expertos en Diabetes Mellitus de la OMS:*****MÉTODO:*****Sobrecarga oral de 75 g de glucosa en adultos y de 1.75g /Kg de peso en niños hasta un máximo de 75 g.*** **Se extrae al paciente sangre en condiciones basales (glucemia basal).**
* **Se suministra una solución de glucosa, la cual debe ser bebida despacio durante 5 minutos.**
* **Después de dos horas se realiza otra toma de sangre venosa.**
* **Según los datos obtenidos, se puede clasificar al paciente dentro de los siguientes grupos:**

**Tolerancia A La Glucosa Normal, Tolerancia A La Glucosa Alterada, Diabetes Mellitus**Para diagnosticar la **DIABETES DEL EMBARAZO** según criterios de O’Sullivan, se hace un “screening” con sobrecarga de 50 g de glucosa oral, y una extracción de sangre pasada una hora. Si la glucosa en sangre venosa en la muestra de una hora es igual o superior a 7.8 mmol/l (140 mg/dl). Luego se pasa a hacer una sobrecarga con 100 g de glucosa oral, haciendo extracciones para la determinación de glucemia basal (antes de tomar la glucosa) y a los 60, 120 y 180 minutos de iniciar la toma de glucosa.Siempre deben realizarse las pruebas de sobrecarga oral de glucosa en enfermos ambulatorios, ya que en los días anteriores a la prueba deberán seguir una dieta y actividad física normales. Si al realizar la prueba aparecen molestias, vómitos o mareos, debe suspenderse la realización de los análisis.  |
| 1. **MÉTODOS:** Cuantitativos
 |
| 1. **PROCEDIMIENTO – FUNDAMENTO:**
	1. **Cuantificación de Glucosa Método Glucómetro en condiciones basales y posprandiales**

***PREPARACIÓN ESTUDIANTES:*** Los estudiantes de cada grupo deben estar en condiciones basales para la cuantificación de glicemia basal (al menos 8 horas de ayuno). Mediante la punción de sangre capilar y el uso del glucómetro se realiza en todos los estudiantes de los grupos**:** **(Glicemia Basal):** Se aplicará el método por el Glucómetro (sistema Accucheck Active) en sangre capilarInmediatamente los estudiantes contarán con 10 minutos para que puedan comer y seguir con la práctica. **(Glicemia Posprandial):** Se aplicará el método por el Glucómetro (sistema Accucheck Active) en sangre capilar * 1. **Cuantificación Espectrofométrica de Glucosa Basal Método GOD-PAP**

Se recomienda seleccionar un estudiante que pudiese tener antecedente de diabetes en la familia para la obtención de sangre en tubo con EDTA Se procede a dividir la muestra en dos partes en tubos de ensayo completamente limpios:1 ml de sangre completa no se centrifuga y se utiliza en la cuantificación de hemoglobina glicosilada4 ml se centrifuga para liberar plasma y cuantificar glucosa por el método GOD/PAP y FructosaminaRevisar el Método GOD-PAP (Human), referencia aula virtual, se realizará en una muestra (plasma) obtenido con EDTA en condiciones basales.* 1. **Cuantificación Espectrofométrica de Hemoglobina Glicosilada**

Revisar el Método Cromatográfico en tubo con resina de Intercambio Iónico de Hemoblogina A1c en sangre, referencia aula virtual. Se realizará en una sola muestra de sangre obtenida en el tubo de tapa lila.* 1. **Cuantificación Espectrofométrica de Fructosamina**

Revisar el Método Cromatográfico Método colorimétrico (NBT) para la determinación de fructosamina en plasma recogido con EDTA. |
| 1. **REGISTRO DE DATOS DE LA PRÁCTICA (ORIGINAL):**
 |
| 1. **CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:**
2. **Cuantificación de Glucosa (glicemia basal): Método Glucómetro**

|  |
| --- |
| **Valor referencial Glucosa (glucómetro):** |
| **PACIENTE: Apellidos y Nombres** | **CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA** | **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS** |
|  | **1A (basal)** | **1B (posprandial)** |  |
|  |  |
|  | **2A (basal)** | **2B (posprandial)** |  |
|  |  |
|  | **3A (basal)** | **3B (posprandial)** |  |
|  |  |
|  | **4A (basal)** | **4B (posprandial)** |  |
|  |  |
|  | **5A (basal)** | **5B (posprandial)** |  |
|  |  |
|  | **6A (basal)** | **6B (posprandial)** |  |
|  |  |  |
|  | **7A (basal)** | **7B (posprandial)** |  |
|  |  |  |

1. **Cuantificación Espectrofotométrica de Glucosa Basal Método GOD-PAP**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **A (Absorbancia Blanco):** |  |
| **As (Absorbancia Estándar):** |  |
| **Am (Absorbancia Muestra):** |  |
| **Valor Normal de Glucosa** |  |
| **Cálculo de la Concentración de Glucosa** |  |
| **Interpretación Clínica de Resultados** |  |

1. **Cuantificación Espectrofotométrica de Hemoglobina Glicosilada**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **HbA1c (Problema)** |  |
| **HbA1c (Estándar)** |  |
| **Hb Total (Problema)** |  |
| **Hb Total (Estándar)**  |  |
| **Valor Normal de Hemoglobina Glicosilada** |  |
| **Cálculo de la Concentración de Hemoglobina Glicosilada** |  |
| **Interpretación Clínica de Resultados** |  |

1. **Cuantificación Espectrofotométrica de Fructosamina Método sal de tetrazolio (NBT)**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **A (Absorbancia Blanco):** |  |
| **As (Absorbancia Estándar):** |  |
| **Am (Absorbancia Muestra):** |  |
| **Valor Normal de Fructosamina** |  |
| **Cálculo de la Concentración de Fructosamina** |  |
| **Interpretación Clínica de Resultados** |  |

 |
| 1. **CUESTIONARIO/TAREAS/PREGUNTAS:**
	1. Sustentando la teoría en la Bioquímica de Harper, así como en los videos constantes en el aula virtual. Explique mediante organizadores gráficos las rutas del metabolismo de carbohidratos.
	2. Establezca la importancia Biomédica de la Cuantificación de Glucosa Basal, Glucosa Posprandial, Hemoglobina glicosilada y Fructosamina
	3. Explique la importancia de la prueba del Péptido C
	4. En qué consiste la Resistencia a la insulina
	5. Explique cómo se realiza y en que consiste el test de tolerancia a la glucosa oral.
	6. Indique que condiciones pueden causar interferencia en las pruebas de laboratorio de Glucosa (Glucómetro, método enzimático colorimétrico), hemoglobina glicosilada y Fructosamina.
	7. Explique el fundamento del uso del glucómetro
 |
| 1. **GRÁFICOS:**
 |
| 1. **OBSERVACIONES:**
 |
| 1. **CONCLUSIONES:**
 |
| 1. **SUGERENCIAS:**
 |
| 1. **TERMINOLOGÍA:**
 |
| 1. **BIBLIOGRAFÍA:**

|  |
| --- |
| **16.1. BÁSICA:** |
| 1. Murray, R., (2013), Bioquímica de Harper Ilustrada 29a ed, México, DF: Editorial Manual Moderno.
2. Laguna, Piña., (2009), Bioquímica 6a ed, México, DF: Editorial Manual Moderno.
3. De Robertis, E., (2005), Biología Celular y Molecular [Buenos Aires, Argentina: Editorial El Ateneo](http://biblioteca.unach.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=publisher_see&id=17).
4. D’ocon, María., (1979), Fundamentos y Técnicas de Análisis Bioquímico, España: Editorial Paraninfo.
5. Salve, María Luisa., (1994), Laboratorio de Bioquímica, Madrid: Editorial McGraw-Hill.
6. Cromatest Linear Chemical, S.L REF 1112005.,(2016), Método para cuantificar Bilirrubina
 |
| **16.2. COMPLEMENTARIA** |
| 1. Feduchi, E., (2011), Bioquímica conceptos esenciales, Colombia: Editorial Medica Panamericana
2. Araque Marín, P. (2021). Bioquímica para Medicina: (1 ed.). Fondo Editorial EIA. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/223081>
3. Blanco Gaitán, M.D. (2017). Fundamentos de bioquímica estructural: (3 ed.). Editorial Tébar Flores. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/51988>
4. Falcón Franco, M. A. (Il.). (2020). Texto de Bioquímica: ( ed.). Libromed Panamá. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/210858>
5. Farrell, S.O. &O. Farrell, S. (2016). Bioquímica. Vol. 2: (8 ed.).Cengage Learning. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/40040>
6. Ferrier,D.R. Jameson, B. A. &León Jiménez,R.G. (Trad.). (2015). Memorama: Bioquímica: ( ed.).
7. Guyton A., (2008), Tratado De Fisiología Médica, 11va edición, Barcelona, España: Editorial Interamericana Mc Graw- Hill.
8. Feduchi.E., (2011), Bioquímica conceptos esenciales, [Buenos Aires : Editorial Médica Panamericana](http://biblioteca.unach.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=publisher_see&id=4)
9. Harvey,R. A. (2011). Bioquímica: (5 ed.). Wolters Kluwer Health. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/124797>
10. KHANACADEMY. [Online]. Available from: <https://es.khanacademy.org/science/biology/cellular-respiration-and-fermentation/pyruvate-oxidation-and-the-citric-acid-cycle/a/pyruvate-oxidation>
11. Perán Mesa, S. (2016). Introducción a la bioquímica clínica: ( ed.). Servicio de Publicaciones yDivulgación Científica de la Universidad de Málaga. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/60710>
12. Pardo Rojas, L. B. (2014). Bioquímica estructural: (1 ed.).Universidad de La Salle - Ediciones Unisalle. https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/222015
13. Rojo de metilo. De Wikipedia. Recuperado 18 de abril 2019 de <https://es.wikipedia.org/wiki/Rojo_de_metilo>
14. Mosby., (2005), Diccionario de Medicina, [Barcelona, España: Editorial Océano](http://biblioteca.unach.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=publisher_see&id=34)
15. Mètodo Cuantificaciòn Lactato, Available from: <https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/lactate_sp.pdf>
16. Osorio MA. Metabolismo. Córdoba: El Cid Editor; 2009.
17. Roskosky., (1998), Bioquímica, Colombia: Editorial McGraw Hill,
18. Video cuantificación de Lactato Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=6CJr6E4aqAk>
19. Wood, E.J., (1991), Essential Chemistry for Biochemistry, 2da edición, México DF: Editorial the Biochemical.
20. Wolters Kluwer Health. <https://elibro.net/es/lc/unachecuador/titulos/125904>

Webgrafíahttp://www.unach.edu.ec/bases-de-datos-cientificas\_pm/<https://www.youtube.com/watch?v=H57ePSiubrw><https://www.youtube.com/watch?v=aMrahmmWJCw><http://www.accu-chek.cl/productos/manuales/prod_accuactive.pdf><http://www.linear.es/ficheros/archivos/3155105C.pdf><https://www.youtube.com/watch?v=NTROkYIOwXM>Cuantificación de glucosa: <https://youtu.be/6t1zckUuYAs>Cuantificación de Hemoglobina Glicosilada <https://youtu.be/FklioG2U6AQ> |

 |

|  |
| --- |
| **Dra. María Angélica Barba Maggi. Mgs****DOCENTE DE LA CÁTEDRA** |
| **Lic. Franklin Ramos****TÉCNICO DOCENTE LABORATORIO** | **Dr. Patricio Vásconez****DIRECTOR DE CARRERA MEDICINA** |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **8. ANEXO/ DATOS OBTENIDOS EN LA APLICACIÓN EXPERIMENTAL:**Descripción: sellocirc**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO****FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD** **REPORTE DE DATOS OBTENIDOS EN LA PRÁCTICA**

|  |  |
| --- | --- |
| **CARRERA:** |  |
| **ASIGNATURA:**  |  |
| **CURSO** |  |
| **PARALELO** |  |
| **PRÁCTICA DE LABORATORIO No:**   |  |
| **TEMA:** |  |
| **FECHA REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA:** |  |
| **DOCENTE:** | **Dra. María Angélica Barba Maggi. Mgs.** |
| **GRUPO No.** |  |
|  **APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS ESTUDIANTES** | **CÉDULA** | **FIRMA** |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

1. **Cuantificación de Glucosa (glicemia basal): Método Glucómetro**

|  |
| --- |
| **Valor referencial Glucosa (glucómetro):** |
| **PACIENTE: Apellidos y Nombres** | **CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA** |
|  | **1A (basal)** | **1B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **2A (basal)** | **2B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **3A (basal)** | **3B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **4A (basal)** | **4B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **5A (basal)** | **5B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **6A (basal)** | **6B (posprandial)** |
|  |  |
|  | **7A (basal)** | **7B (posprandial)** |
|  |  |

1. **Cuantificación Espectrofométrica de Glucosa Basal Método GOD-PAP**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **A (Absorbancia Blanco):** |  |
| **As (Absorbancia Estándar):** |  |
| **Am (Absorbancia Muestra):** |  |
| **Valor Normal de Glucosa** |  |

1. **Cuantificación Espectrofométrica de Hemoglobina Glicosilada**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **HbA1c (Problema)** |  |
| **HbA1c (Estándar)** |  |
| **Hb Total (Problema)** |  |
| **Hb Total (Estándar)**  |  |
| **Valor Normal de Hemoglobina Glicosilada** |  |

1. **Cuantificación Espectrofotométrica de Fructosamina Método sal de tetrazolio (NBT)**

|  |  |
| --- | --- |
| **DETALLE** | **REGISTRO DE DATOS** |
| **Longitud de onda de la prueba** |  |
| **Concentración del Estándar** |  |
| **Tipo de Muestra** |  |
| **A (Absorbancia Blanco):** |  |
| **As (Absorbancia Estándar):** |  |
| **Am (Absorbancia Muestra):** |  |
| **Valor Normal de Fructosamina** |  |

**FIRMA DE LA DOCENTE:**……………………………………………………………………………**Dra. María Angélica Barba Maggi, Mgs.** |