

El día de la toma de muestra el paciente debe...

- Comer normalmente durante algunos días antes del examen.
- No comer ni beber nada durante al menos 8 horas antes del examen y tampoco durante éste.
- Consultar al médico si cualquiera de los medicamentos que toma puede afectar los resultados del examen. Puede ser que el médico le pida suspenderlo temporalmente, ya que algunos medicamentos también pudieran afectar los resultados de esta prueba.
- Evitar situaciones de estrés e infecciones, alza febril, patologías u hospitalizaciones recientes.

La persona debe llegar con **12 hrs. de ayuno** antes del **examen**. Dentro del estudio, se le da a beber un líquido con una medida controlada de glucosa y se van realizando pruebas de glucosa en sangre cada 30 a 60 minutos hasta por 3 horas para ver de qué manera el organismo responde a la carga de glucosa y detectar el funcionamiento de la insulina producida.



Prueba de Tolerancia a la Glucosa



Consideraciones del Médico

Se realiza cuando la persona presenta niveles normales en las pruebas de glucosa en sangre en ayunas, pero se sospecha la posibilidad de que padezca diabetes.

Dado que los síntomas son muy claros en *diabetes tipo 1*, esta prueba por lo general se aplica para detección de *diabetes tipo 2* o *diabetes gestacional*.



Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO)

Técnica



OBJETIVO:

Definir químicamente la diabetes.

Los clínicos suelen servirse de la respuesta del paciente ante una sobrecarga de glucosa, esta sobrecarga se ha estandarizado:

Tras la ingesta o la infusión venosa de glucosa se determinan los valores plasmáticos de ésta.



Procedimiento...

1. Realizar entre las 7 y 9 de la mañana y después de 30 minutos de reposo una *muestra de sangre* para determinar la glucosa basal.
2. Dependiendo el nivel de glucosa basal que presente el paciente se le dará a *ingerir la sobrecarga*.
3. Una vez que el paciente haya terminado la sobrecarga, se toma el tiempo cuando terminó de ingerirla, a partir de este momento *se toman muestras de sangre a los 30 minutos, 1 hora, 2 horas y hasta 3 horas* (si es requerida por el médico) de la hora en la cual terminó el paciente de ingerir la sobrecarga.
4. Realizar la *determinación de glucosa* de cada una de las muestras.

Valores normales

Diabetes Tipo II

- En ayunas: De 60 a 100 mg/dL
- 1 hora después de la carga de glucosa: menos de 200 mg/dL
- 2 horas después de la carga de glucosa: menos de 140 mg/dL

*Si los resultados se encuentran entre 140 y 200 mg/dL ya se puede hablar de una manifestación de **intolerancia a la glucosa** comúnmente llamada "prediabetes".*

Si los niveles sobrepasan los 200 mg/dL ya se puede diagnosticar a la persona con diabetes.



Valores normales



Diabetes Gestacional

- Ayunas: Menor a 95 mg/dL
- 1hra. después de la carga de glucosa: Menor a 180 mg/dL
- 2 hrs. después de la carga de glucosa: Menor a 155 mg/dL
- 3 hrs. después de la carga de glucosa: Menor a 140 mg/dL



Interpretación de resultados

Los diferentes diagnósticos se harán dependiendo de los siguientes resultados...



Tolerancia Normal a la Glucosa

- ❖ Todos los valores de glicemia (glucosa en sangre) fueron **menores a 200 mg/dl durante las 2 primeras horas**
- ❖ Niveles de glicemia a las **2 horas después** de la ingesta de la solución glucosada fue **menor a 140 mg/dl.**

Tolerancia Anormal a la Glucosa:

- ❖ Nivel de glicemia en ayunas mayor de 100 mgs/dl y menor a 125 mgs.dl
- ❖ Nivel de glicemia 2 horas después de la ingesta de la solución glucosada, estuvo entre 140 mg/dl. a 199 mg/dl..

En este caso la persona puede tener Resistencia a la Insulina ó Prediabetes y en cualquiera de los dos casos, el diagnóstico de Diabetes aún podría ser prevenido.

Interpretación de resultados

Los diferentes diagnósticos se harán dependiendo de los siguientes resultados...

- **Diabetes Gestacional**

Una mujer tiene Diabetes Gestacional cuando los niveles de glicemia, 1 hora después de la ingesta de solución glucosada es de 180 mg/dl ó más, 155mg/dl ó más 2 horas después y 140 mg/dl ó más 3 horas después de tomada dicha solución.

- **Diabetes:** Se considera que una persona tiene Diabetes cuando su nivel de glicemia en ayunas es mayor a 126 mgs/dl y el nivel de glicemia 2 horas después de la ingesta de la solución glucosada es mayor a 200 mgs/dl.



Prueba de glicemia postpandrial

La medición de la glucemia permite saber si hay una buena regulación del nivel de azúcar en la sangre. Este examen es prescrito cuando se sospecha una hiperglucemia, o hipoglucemia, es decir un nivel de azúcar insuficiente en la sangre.

Algunos de los síntomas que podría presentar un paciente para que se le realizase esta prueba son los clásicos relacionados con la diabetes, como poliuria, polidipsia.

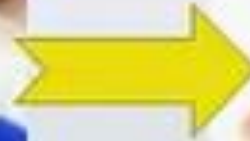
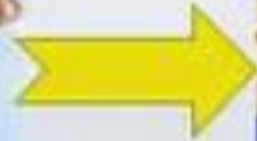


Condición del paciente

Para el análisis de química clínica el paciente debe cumplir con las siguientes especificaciones:

- **Dieta:** se recomienda que tome una comida normal entre las 7 y 8 de la noche.
- **Ayuno:** el paciente debe estar en ayuno obligatoriamente para la realización de estos exámenes especialmente glicemia, perfil lipídico.
- **Ejercicio:** es importante que el paciente no realice ejercicio físico antes de la toma de muestra.
- **No ingerir alcohol**
- **No fumar**
- **Medicamentos:** el paciente debe saber que medicamentos está tomando ya que pueden interferir en los resultados de los análisis.





1. El procedimiento para la toma de muestra es:

El paciente llega al medico en ayunas se le realiza una extracción sanguínea, se le pide que ingiera alimentos azucarados, a la hora se le realiza otra extracción, y a las 2 horas nuevamente otra extracción.

Valores normales

Glicemia basal (en ayunas)

- Debe ser igual a 100 mg/dl osea **entre 80 y 110 mg/100ml**
- Después de una hora: 175 mg/100 ml osea entre **140 y 170 mg /100 ml**
- Después de dos horas: El valor debe volver a ser normal, osea entre **80 y 110 mg/dL**



Hay factores que pueden afectar como drogas que puede alterar los resultados

Otros factores que pueden alterar los resultados: Etanol, Enfermedad reciente, Infección, Embarazo, Ejercicio activo, Estrés, Fracaso en el seguimiento de restricciones dietéticas.

Interpretación de Resultados

Si el valor a las 2 horas no ha vuelto a la normalidad puede indicar enfermedades como:

Diabetes mellitus

- Pancreatitis
- Síndrome de Cushing
- Acromegalia
- Feocromocitoma



Hiperinsulinismo

- Tumor pancreático
- Hipoglucemia funcional
- Mixedema
- Malabsorción



Condición del paciente

Ventajas...

- La extracción puede realizarse en cualquier momento del día
- El paciente no necesita estar en ayunas
- La muestra obtenida puede mantenerse en heladera por hasta siete días
- Su concentración predice el desarrollo de complicaciones



Pero, no se debe dejar de tener en cuenta algunos aspectos del individuo evaluado por este método y que modifican el valor de HbA1c como son:

- Edad
- Raza
- Embarazo
- Anemias por pérdida de sangre o alteraciones en la producción de glóbulos rojos
- Hemoglobinopatías





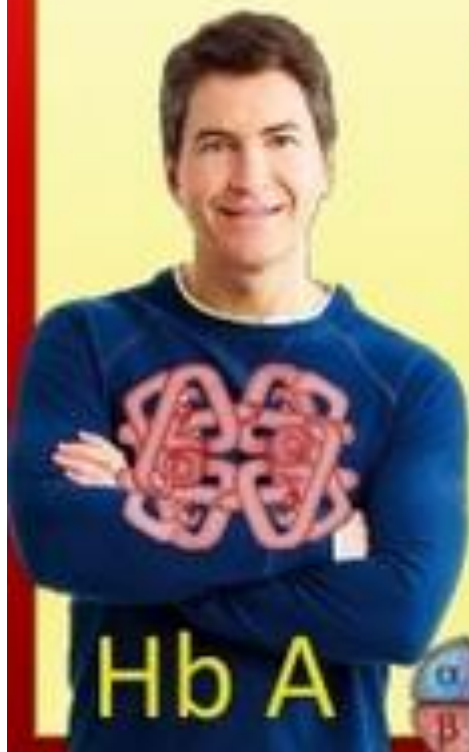
El examen de **hemoglobina glucosilada** (HbA1c) le sirve al médico para determinar cómo ha sido el control glucémico de una persona con diabetes en los últimos tres meses. Por esta razón se recomienda hacer esta prueba cada tres meses y una ventaja es que no se requiere estar en ayuno para hacerla.

Principio...



¿Qué es la Hemoglobina?

La Hemoglobina (Hb) es una proteína producida en los glóbulos rojos y tiene como función principal el transporte de las moléculas de oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos y cada molécula que fabrica nuestro organismo, circula por sangre durante aproximadamente tres meses.



Hb A



Técnica



La técnica consiste en la adición de reactivos a la muestra del paciente (sangre con EDTA), posteriormente, la reacción producida da como resultado una aglutinación. La aglutinación es un agregado de células o partículas debido a una formación entrelazada.

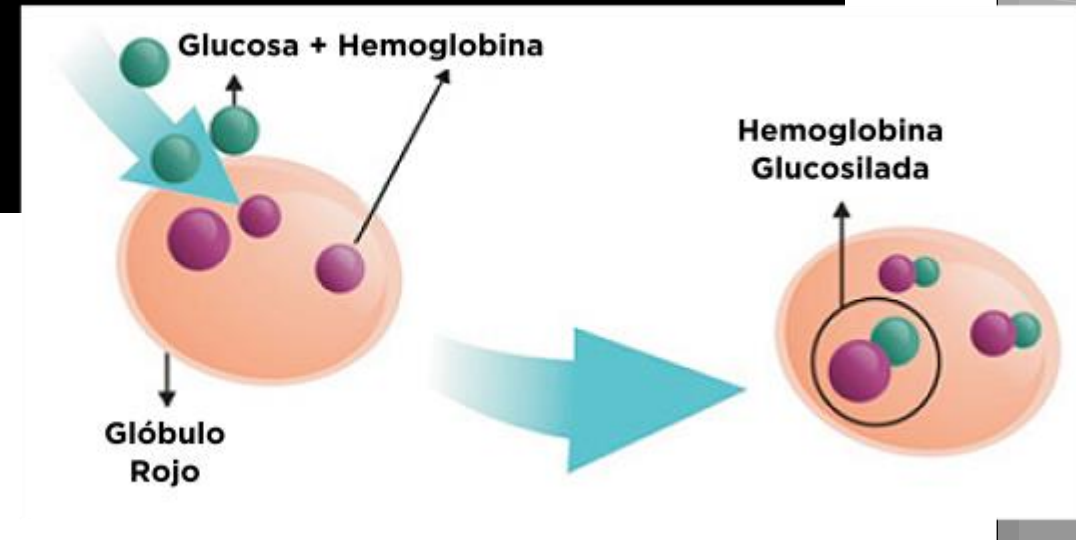
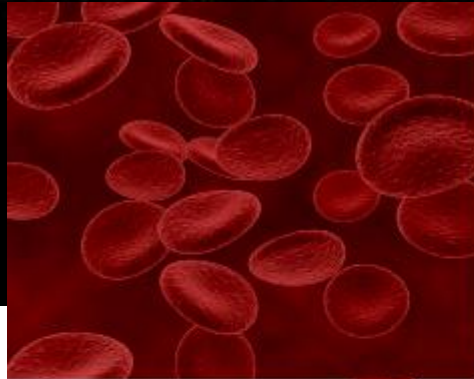
Reactivos para uso exclusivo en Autoanalizadores

Se usan los reactivos A (1 x 30ml. Reactivo de Látex) y B (1 x 10ml. Disolución Tampón/Anticuerpos), directamente en el instrumento.



Metodo de cromatografia

La glicohemoglobina ha sido definida operacionalmente como la "fracción rápida" de la hemoglobina (HbA1a, A1b, A1c) la cual fluye primero durante la cromatografía en columna con resinas de intercambio iónico. La hemoglobina no glucosilada, que constituye el resto de la hemoglobina, ha sido designada HbAo. El procedimiento para la determinación de la glicohemoglobina emplea una resina de intercambio catiónico de unión tenue para la separación de la glicohemoglobina (fracción rápida) de la hemoglobina no glucosilada.



Tecnica

Una preparación hemolizada de sangre entera se mezcla continuamente durante cinco minutos con una resina de intercambio iónico de ligadura tenue. Durante este tiempo, el HbA₀ se une a la resina. Después del periodo de mezclado se usa un filtro separador para retirar la resina del líquido sobrenadante que contiene la glicohemoglobina. El porcentaje de glicohemoglobina se determina midiendo la absorbencia a 450 nm de la fracción de glicohemoglobina y la fracción de hemoglobina total, calculando la variación de las absorbencias, y comparando esta variación con la de un calibrador realizada durante el proceso de separación.



LINEA TURBITEST AA

HbA_{1c} v.2

Método de inhibición inmunoturbidimétrica para la determinación cuantitativa de HbA_{1c}

SIGNIFICACION CLINICA

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica, que comprende un conjunto de desórdenes del metabolismo de los hidratos de carbono que cursan con una manifestación común: la hiperglucemia.

El control glucémico periódico permite prevenir los trastornos agudos y reducir el riesgo de las complicaciones tardías de la enfermedad (retinopatía, nefropatía, neuropatía y enfermedades cardiovasculares).

La relación entre el desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares y el control glucémico ha sido debatida por muchos años, en parte debido a los métodos inadecuados para realizar un control glucémico retrospectivo. Los métodos tradicionales de medición de glucosa en sangre y orina tienen un valor limitado para este propósito, y sólo fue con el desarrollo de determinaciones para proteínas glicosiladas o glicosadas, que se ha logrado un conocimiento exacto y objetivo del estado glucémico a largo plazo.

Las glicohemoglobinas, también llamadas hemoglobinas glicosiladas o glicosadas, fueron descritas por primera vez en 1968 por Rathbar como "hemoglobinas diabéticas". Su producción depende de la concentración de glucosa y ocurre a través de un proceso no enzimático post-traduccional llamado glicosación, donde el azúcar es unido a los grupos amino de las moléculas de hemoglobina (Hb). La glicosación de los aminoácidos N-terminales de las cadenas α y β como así también los grupos γ -amino de los residuos de histina en la molécula de hemoglobina, resultan en una variedad de hemoglobinas glicosadas, incluyendo HbA_{1c}, que es la especie glicosilada en la valina N-terminal de la cadena β .

Los niveles de HbA_{1c} son proporcionales a la concentración de glucosa en sangre durante las últimas 6-8 semanas. Así, la determinación de HbA_{1c} provee un parámetro integral para el control glucémico a largo plazo en el paciente diabético.

FUNDAMENTOS DEL METODO

HbA_{1c} v.2 Turbitest AA es un método de inhibición inmunoturbidimétrica para determinar la cantidad de hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) como una proporción de la hemoglobina total, en sangre entera humana (% o mmol/mol HbA_{1c}). Para ello, es necesario liberar la hemoglobina contenida en los glóbulos rojos, mediante la hemólisis de la muestra. La sangre del paciente se pone en contacto con el **Reactivo Hemolizante** que contiene un detergente (bromuro de tetradeciltrimetilammonio - TTAB) que lisa los glóbulos rojos específicamente. A partir del hemolizado obtenido, se determina mediante dos reacciones independientes, el nivel de HbA_{1c} y Hb de la muestra.

HbA_{1c}

Durante la primera fase de la reacción, la HbA_{1c} de la muestra reacciona con el anticuerpo específico anti-HbA_{1c} (Reactivo A), formando complejos antígeno-anticuerpo solubles. Dado que la molécula de HbA_{1c} posee un solo epítopo por β -globina para la fijación del anticuerpo específico, no pueden formarse redes de inmunocomplejos.

Con la adición del polihapteno (Reactivo A₂), que posee numerosos epítopos por molécula, se produce la reacción de dichas moléculas con el exceso de anticuerpo específico de la primera reacción, dando lugar a inmunocomplejos insolubles que pueden ser medidos turbidimétricamente a 340 nm. De esta manera, cuanto mayor es el contenido de HbA_{1c} de la muestra, menor es la formación de inmunocomplejos insolubles y menor la señal turbidimétrica obtenida.

Hb

La hemoglobina liberada al hemolizar la muestra, es convertida en un derivado que puede ser medido espectrofotométricamente (Reactivo B).

Este método es capaz de detectar todas las variantes de hemoglobina glicosadas en la porción N-terminal de la cadena β , cuya región reconocida por el anticuerpo es idéntica a la HbA_{1c}. De esta manera permite controlar el estado metabólico del diabético con hemoglobinopatías y venetas.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: anticuerpos monoespecíficos anti-HbA_{1c} en buffer pH 6.2.
A₂ Reactivo A₂: polihapteno-HbA_{1c} en buffer pH 6.2.
B. Reactivo B: buffer fosfato pH 7.4.

REACTIVOS NO PROVISTOS

-HbA_{1c} Calibrator Turbitest AA de Wiener lab.
-Reactivo Hemolizante, de Wiener lab.
-Agua desmineralizada.
-Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos A, A₂ y B: listo para usar.
Reactivo Hemolizante: listo para usar.
HbA_{1c} Calibrator Turbitest AA: ver reconstitución en el manual de instrucciones correspondiente. El calibrator no requiere tratamiento previo con el Reactivo Hemolizante.

PRECAUCIONES

Los Reactivos Provistos son para uso diagnóstico "in vitro". El detergente TTAB es irritante. R06036. mita los ojos y la

Procedimiento

A. PREPARACION DE HEMOLIZADO:

1. Coloque 0.5 mL de Reactivo Separador (Lysing Reagent) en tubos etiquetados: CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, ETC.
2. Coloque 0.1 mL de muestra de sangre bien mezclada en un tubo debidamente etiquetado. Mezcle hasta que la separación completa sea evidente.
3. Permita reposar por 5 minutos.



B. SEPARACION DE GLICOHEMOGLOBINA:

Nota: Antes de usarse, mezcle bien la resina invirtiendo la botella por lo menos seis veces. Menee la botella entre cada servido.

1. Coloque 3.0 mL de Resina de intercambio iónico para Glicohemoglobina en tubos de 13 X 100 mL etiquetados: CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA1, etc.
2. Coloque 0.1 mL del hemolizado del paso A en el tubo de resina propiamente etiquetado.
3. Coloque el filtro separador en el tubo de modo que la manga de goma esté aproximadamente a 2 cm por encima del nivel de líquido.
4. Coloque los tubos en el mezclador automático y mezcle continuamente durante 5 minutos.
5. Retire los tubos del mezclador o centrifugador.
6. Para facilitar la separación, permita que los tubos estén verticales en el tablero de tubos de ensayo durante unos cuantos minutos, luego empuje el filtro separador en el tubo hasta que la resina esté firmemente compactada.
7. Coloque el líquido sobrenadante en otro tubo o directamente en una cubeta para medir la absorbencia.
8. Ajuste el instrumento cero absorbencia a 415 nm utilizando agua desionizada como blanco.
9. Lea y registre los valores de absorbencia para CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, etc. Estas lecturas son para glicohemoglobina.



C. Fracción del Total de Hemoglobina

1. Coloque 5.0 mL de agua desionizada en tubos etiquetados: CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, etc.
2. Coloque 0.02 mL de hemolizado del Paso A en el tubo propiamente etiquetado. Mezcle bien.
3. Ajuste el instrumento cero absorbencia a 415 nm usando agua desionizada como blanco.
4. Lea y registre los valores de absorbencia para CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, etc. Estas lecturas son para el total de hemoglobina.



Valores

La Hemoglobina (Hb) de los seres humanos adultos está constituida principalmente por Hb A (97%), Hb A2 (2.5%), y Hb F (0.5%). La cantidad de hemoglobina glucosilada es proporcional a la concentracion de glucosa en sangre, por lo que en la diabetes hay mayor proporcion de Hb A1c de lo normal.

- Normal: menos de 5.7 %
- Prediabetes: 5.7 a 6.4%
- Diabetes: 6.5% o más



Normal
Menos de 5.7%



Diabetes
6.5% o más



Mediante la prueba clínica se puede diagnosticar a un paciente denotando la importancia aplicada a la vida diaria. En general, cuanto más alto esté el HbA1c, mayor será el riesgo de desarrollar problemas como:

- Enfermedad ocular
- Cardiopatía
- Enfermedad renal
- Daño neurológico
- Accidente cerebrovascular



Si el nivel de HbA1c permanece alto por un período de tiempo largo, el riesgo de tener estos problemas es incluso mayor.